BAND XV NEUE FOLGE LIEFERUNG 2
BAND IX (SCHLUSSLIEFERUNG)

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von
W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Wien / **F. FEIGL**, Wien
H. LIEB, Graz / **H. MOLISCH**, Wien / **F. PREGL** †, Graz / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:
E. Abderhalden - Halle, **H. V. Arny** - New York, **Y. Asahina** - Tokio, **G. Barger** - Edinburgh, **A. Benedetti-Pichler** - New York, **R. Berg** - Königsberg, **G. Bertrand** - Paris, **W. Biltz** - Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Donau**-Graz, **J. Dubský** - Brünn, **R. Eder** - Zürich, **S. Edlbacher** - Basel, **R. Ehrenberg** - Göttingen, **H. v. Euler**-Stockholm, **F. K. Faber**-Wien, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich**-Wien, **F. Fuhrmann** - Graz, **O. Fürth** - Wien, **W. Geilmann** - Hannover, **W. C. de Graaf** - Utrecht, **H. Gravestein** - Delft, **H. G. Greenish** - London, **R. Grengg** - Wien, **F. L. Hahn** - Paris, **M. Haitinger** - Wien, **F. Haurowitz**-Prag, **K. Heller**- Prag, **J. Heyrovský**-Prag, **L. van Itallie** - Leiden, **H. Jansch** - Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-Edinburgh, **J. Kisser**-Wien, **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann** - Berlin, **P. D. C. Kley** - Delft, **F. Knoop** - Tübingen, **L. Kofler** - Innsbruck, **J. M. Kolthoff**-Minneapolis, **G. Lunde**-Stavanger, **K. L. Maljaroff**-Moskau, **A. Martini** - Rosario, **J. W. Matthews** - London, **A. Mayrhofer** - Wien, **L. B. Mendel** - New Haven, **A. Miolati** - Padova, **J. M. Nelson** - New York, **J. B. Niederl** - New York, **W. Nonnenbruch** - Prag, **F. Paneth** - London, **J. K. Parnas** - Lemberg, **V. Patzelt** - Wien, **W. Pauli** - Wien, **E. Philippi** - Innsbruck, **L. Pincussen** - Berlin, **D. Prianischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys**-Graz, **E. Starkenstein**-Prag, **Z. Stary** - Prag, **W. Stepp** - Breslau, **A. Stock**-Karlsruhe, **J. Stoklasa** - Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans** - Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg** - Prag, **A. Tschirch** - Bern, **C. Urbach** - Prag, **A. Viehoever** - Philadelphia, **C. Weygand** - Leipzig, **H. Winterstein**-Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag.

Inhaltsverzeichnis

Originalabhandlungen: pag.

R. Brdička: Polarographische Mikrobestimmung von Cystin und Cystein in Hydrolysaten von einigen Proteinen (mit 5 Textfiguren und 1 Tabelle) 167

F. Feigl, V. Anger und O. Frehden: Über die Verwendung von Tüpfelreaktionen zum Nachweis von organischen Verbindungen, IV. (mit 3 Tabellen) . . 181
Nachweis von Nitrosoverbindungen.

F. Feigl, V. Anger und R. Zappert: Über die Verwendung von Tüpfelreaktionen zum Nachweis von organischen Verbindungen, V. (mit 2 Tabellen) . . 190
Nachweis von Hydrazinderivaten.

F. Hartner: Über die Bestimmung des Broms im Blute 195

C. Urbach: Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers (mit 7 Textfiguren und 7 Tabellen) . . 207

E. Herzfeld: Über eine einfache tyndallmetrische Methode zur Messung von Lipasewirkungen 227

A. J. Bailey and R. J. Robinson: Micro-Determination of Acetyl (mit 2 Tab.) 233

G. Ware Wellwood: Note on the Use of Cerium Dioxide in the Determination of Carbon and Hydrogen by the Pregl Method (mit 1 Textfig. und 2 Tab.) . . 237

L. Kofler: Über einen Mikroschmelzpunktapparat mit am Apparat geeichtem Thermometer (mit 1 Tafel) 242

R. Fischer: Apparate und Methoden der Mikrosublimation (mit 2 Textfig. u. 1 Taf.) 247

A. A. Benedetti-Pichler and W. F. Spikes, jr.: The Use of Potassium Mercuri-Selenocyanate as a Reagent in Qualitative Microanalysis (mit 3 Textfig. und 6 Tabellen) 271

A. A. Benedetti-Pichler and W. F. Spikes, jr.: A Note on the Use of Potassium Mercuri-Thiocyanate as a Microchemical Reagent 288

I. M. Korenman: Eine Schnellmikromethode zur Manganbestimmung (mit 2 Tabellen) 289

H. Wölbling und B. Steiger: Über Rubeanwasserstoff als Mikroreagens auf die Elemente der Platingruppe (mit 1 Textfigur) 295

F. Rappaport: Eine Apparatur zur Herstellung von doppeltdestilliertem Wasser (mit 1 Textfigur) 302

E. Herzfeld: Über eine neue Modifikation der Folin'schen Harnsäurebestimmungsmethode 305

S. Kühnel Hagen: Notiz zum Nachweis kleiner Fluormengen 313

I. M. Korenman: Eine Schnellmikrobestimmung des Eisens (mit 2 Tabellen) . 315

A. Kofler: Zum mikrochemischen Nachweis des Koffeins und Theobromins (mit 3 Textfiguren und 1 Tafel) 319

Sammelreferat:

R. Jirkovský: Elektrographische Methoden (mit 2 Textfiguren) 331

Bücherschau 343

Varia 346

Mit 25 Abbildungen im Text, 3 Tafeln und 27 Tabellen.

Mikrochemie erscheint in zwangloser Folge — in Lieferungen von verschiedenem Umfange.

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG
1934

Wir empfehlen beiliegende Prospekte besonderer Beachtung

PAUL HAACK

Wien, IX./3, Garelligasse Nr. 4

Gegründet 1893

Telephon Nr. A-22-0-25 Postspark.-Konto 48.473

Alle Apparate für die quantitative organische Mikroanalyse

nach Prof. Pregl

Alle mikrochemischen Apparate und Behelfe

nach Prof. Emich

Behelfe zur Tüpfelanalyse

nach Doz. Feigl

Spezial-Reagenzien für analytische Chemie

Chemische und bakteriologische Apparate

Eigene Werkstätte für Glasbläserei, Ätzerei, Schleiferei und Laboratoriums-Utensilien

Unsere Vertretung in U. S. A.:

MICROCHEMICAL SERVICE

30 Van Zandt Ave., Douglaston, New York

WALTER NERNST'S SIEBZIGSTER GEBURTSTAG.

(25. JUNI 1934.)

Es bedarf vielleicht einiger Worte der Begründung, wenn die „MIKROCHEMIE", deren Aufgaben wesentlich in die beschreibende und experimentelle Richtung einschlagen, einem Gelehrten huldigt, dessen überragende Leistungen auf rein theoretischem Gebiet liegen. Die Rechtfertigung scheint uns gegeben in der Dankesschuld, welche die Mikrochemie gegenüber der physikalischen Chemie empfindet. Dies gilt sowohl im allgemeinen wie im besonderen; im allgemeinen sind es namentlich die Untersuchungen über Wägungen und andere Messungen.

Im besonderen aber finden wir einen ganz speziellen Anlaß, NERNST zu feiern, hat er doch schon vor rund dreißig Jahren quantitative Bestimmungen unter Anwendung sehr kleiner Substanzmengen durchgeführt.

Es handelte sich bekanntlich damals um Gasdichtebestimmungen, die bei 2000° C vorgenommen werden mußten. Sie erforderten unter anderem die Wägung von einigen Milligramm Substanz mit einer Genauigkeit von etwa einem halben Prozent, das heißt eine Aufgabe, die mit den damals gebräuchlichen Laboratoriumswaagen kaum lösbar erschien. NERNST erdachte selbst eine Mikrowaage, die ja allgemein bekannt ist und deshalb nicht beschrieben zu werden braucht. Sie hat in der Folge zu sehr vielen quantitativen Bestimmungen gedient, teils in der ursprünglichen, teils in verschiedenst abgeänderter Gestalt. Sie war tatsächlich eine Zeitlang, das heißt bis zur Einführung der Kuhlmannwaage, die Mikrowaage des Analytikers.

In diesem Zusammenhang erlauben wir uns, NERNST als einen der Begründer der quantitativen Mikroanalyse zu begrüßen und unserem Stolz sowie unserer Freude darüber Ausdruck zu geben, daß wir den Namen NERNST in den Registern der Mikrochemie führen

dürfen. Er selbst mag freilich kaum großen Wert auf die Erfindung gelegt haben, aber wie es schon öfters geht: Was für den einen eine Episode bedeutet, kann für andere zum Ereignis werden. (Und das geschieht namentlich dann leicht, wenn der „Eine" ein hervorragender Kopf ist.) Für die Geschichte der Mikrochemie wird die Erfindung der NERNST-Waage immer ein Ereignis bleiben.

Es wäre naheliegend, der Notiz die üblichen biographischen Daten beizufügen; wir tun das nicht, sondern verweisen auf Lexika und Tagesblätter. Nur einige von den Beziehungen sollen erwähnt werden, die den Jubilar mit Österreich verbinden. So ist Herr Geh. Rat Prof. Dr. WALTER NERNST unter anderem Ehrenmitglied der Wiener Akademie der Wissenschaften und Ehrendoktor der phil. Fakultät der Universität Graz. Auch hat er einen Teil seiner „Lehr- und Wanderjahre" in der genannten Stadt bei LUDWIG BOLTZMANN verbracht. In Erinnerung an diese Zeit widmete er dem schon verstorbenen Physiker ALBERT VON ETTINGSHAUSEN die in vielen Auflagen erschienene „Theoretische Chemie".

Überschüttet mit Dank und Anerkennung, gefeiert in der ganzen wissenschaftlichen Welt, hat NERNST ein hohes Alter erreicht. Möge dem Meister d a s erhalten bleiben, was ihn bisher befähigte, der Wissenschaft und damit der ganzen Menschheit so unendlich viel zu geben. Mögen die vielen guten Wünsche in Erfüllung gehen, die ihm zum Geburtstage zugekommen sind; vielleicht läßt sich die Mehrzahl derselben zusammenfassen in den Worten: der Lebensabend sei äquivalent dem bisherigen Lebenslauf!

REDAKTION DER MIKROCHEMIE.

ORIGINALABHANDLUNGEN.

POLAROGRAPHISCHE MIKROBESTIMMUNG VON CYSTIN UND CYSTEIN IN HYDROLYSATEN VON EINIGEN PROTEINEN.

Von

R. BRDIČKA.

Aus dem Physikalisch-Chemischen Institut der Karls-Universität in Prag.

(Eingelangt am 27. März 1934.)

In mehreren Artikeln ist beschrieben worden, wie man die polarographische Methode von J. HEYROVSKÝ zur qualitativen und quantitativen Analyse verwenden kann[1—9]. Eine solche Analyse, beruhend auf Elektrolyse mittels tropfender Quecksilberkathode, ist durch automatisch registrierte Stromspannungskurven dargestellt, die in den meisten Fällen streng reproduzierbar sind. Die große Empfind-

[1] S. PRÁT, Die polarographische Methode. Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden, Abderhalden, Abt. III, A. II, 1413, 1928.

[2] J. HEYROVSKÝ, Sur la méthode analytique d'electrolyse avec la cathode à gouttes de mercure. Bull. Soc. Chim., **41**, 1224 (1927).

[3] J. HEYROVSKÝ, O použitelnosti polarografické methody v praktické chemii. Chemické Listy, **24**, 419 (1930).

[4] W. KEMULA, Über HEYROVSKÝ's elektroanalytische „polarographische" Methode und ihre Anwendung in der theoretischen und praktischen Chemie. Ztschr. Elektrochem., **37**, 779 (1931).

[5] G. SEMERANO, Il polarographo, sua teoria e applicazioni. Padova 1932, 1933.

[6] J. HEYROVSKÝ, Anwendung der polarographischen Methode in der Mikroanalyse. Mikrochemie, **XII**, 25 (1932).

[7] J HEYROVSKÝ, Použití polarografické methody v praktické chemii. Praha 1933.

[8] J. HEYROVSKÝ, Applications industrielles de la méthode polarographique. Chimie et Industrie, **29**, 204 (1933).

[9] V. MAJER, Die polarographische Bestimmung der Alkalimetalle. Ztschr. analyt. Chem., **92**, 321 (1933).

lichkeit dieser Methode ermöglicht unter gewissen Umständen eine Bestimmung von Spuren reduzierbarer Substanzen bis zu einer Konzentration von 10^{-6} n, wenn in Abwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff gearbeitet wird, da dieser selbst reduziert wird. Höhere Verdünnungen sind nicht zulässig, weil der Diffusionsstrom gegen den Strom, der zur Ladung des Molekularkondensators notwendig ist, verschwindet. Für die Elektrolyse genügen jedoch sehr geringe Volumina, 0,1 ccm, so daß die Grenze der Empfindlichkeit für die absolut bestimmbare Menge sehr gesteigert wird. Einige Beispiele solcher Mikroanalysen sind von J. Heyrovský in dieser Zeitschrift angegeben worden[6].

Außer den normalen Fällen, in denen man zur quantitativen Mikroanalyse die der Konzentration proportionalen Diffusionsströme mißt, sind an der Quecksilber-Tropfkathode auch solche Erscheinungen bekannt, in welchen die in Spuren anwesende Substanz katalytisch auf die Abscheidung eines Bestandteiles der Lösung wirkt. Dann kann der katalysierte Strom, der der Abscheidung dieses Bestandteiles entspricht, viel größer als der Diffusionsstrom sein.

Es sind bis jetzt drei derartige Fälle bekannt, die auf Erniedrigung der Wasserstoffüberspannung an Quecksilber beruhen: 1. Die katalysierte Wasserstoffabscheidung durch Spuren von Platin[10] und Platinmetallen[11], 2. der Effekt von Proteinen[12, 13] und 3. ein analoger Effekt von sulfhydrylhaltigen Säuren[14] in gepufferten Lösungen, welcher durch Kobaltsalze noch deutlicher und charakteristischer hervorgehoben wird.

In den beiden letzten Fällen handelt es sich um eine Erscheinung gemeinsamer Natur, die in einer besonderen Funktion der Sulfhydrylgruppe zu suchen ist. Es wurde gezeigt[13], daß nur cystin-

[10] I. Šlendyk, The decrease of hydrogen overpotential effected by traces of Platinum. Collection, 4, 335 (1932).

[11] P. Herasymenko und I. Šlendyk, The catalysis of the electrodeposition of hydrogen due to the presence of the Platinum metals. Collection, 5, 479 (1933).

[12] J. Heyrovský und J. Babička, The effect of Albumins. Collection, 2, 370 (1930).

[13] R. Brdička, A new test for proteins in the presence of cobalt salts in ammoniacal solutions of ammonium chloride. Collection, 5, 112 (1933).

[14] R. Brdička, Activation of hydrogen in sulphydryl group of some thio-acids in cobalt salt solutions. Collection, 5, 148 (1933).

haltige Proteine die polarographische Proteinreaktion von J. HEYROVSKÝ und J. BABIČKA[12] mit Kobalto- oder Kobaltisalzen geben können, während andere, wie Gelatin, Protamine und Seideprotein, wirkungslos bleiben. In einer weiteren Untersuchung von polarographischen Eigenschaften einiger Aminosäuren, die in sauren Hydrolysaten von Proteinen in Betracht kommen, wurde gefunden, daß nur Cystin, und zwar schon in sehr kleiner Konzentration (10^{-6} m), eine charakteristische Stromsteigerung hervorruft, wenn es in einer ammoniakalen Lösung von Kobaltchlorid und Ammoniumchlorid enthalten ist (siehe Fig. 1). Diese Stromsteigerung erreicht ein

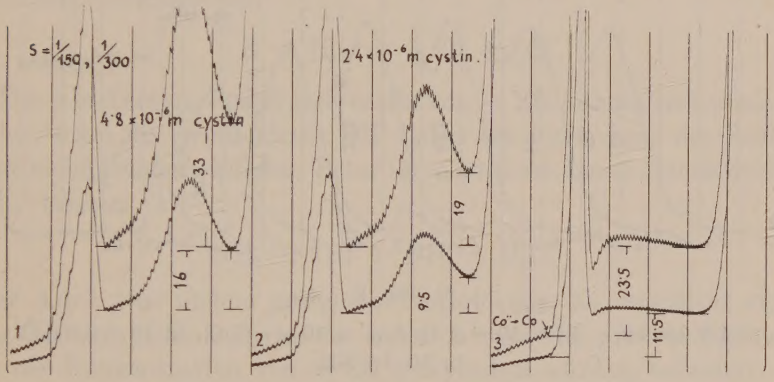


Fig. 1.

1. 4,8 × 10—6 m Cystin
2. 2,4 × 10—6 m Cystin
3. Kein Cystin.

in 2 × 10—3 n-$CoCl_2$ in 10—1 n-NH_4Cl in 10—1 n-NH_3.

reduzierbares und meßbares Maximum, dessen Höhe ungefähr 500-mal größer ist als die Höhe des gewöhnlichen durch die Elektroreduktion derselben Menge verursachten Diffusionsstromes. Sie ist jedoch hier nicht wie gewöhnlich proportional der Konzentration des Cystins (siehe Fig. 2); die Abhängigkeit ihrer Größe vom Maximum muß deshalb graphisch durch eine Kurve dargestellt werden[14—15]. Diese Kurve erreicht einen Grenzwert und kann durch die LANGMUIR'sche Isotherme ausgedrückt werden, wenn die Höhe des

[15] R. BRDIČKA, The microdetermination of cysteine and cystine in the hydrolysates of proteins and the course of the protein decomposition. Collection, 5, 238 (1933).

Maximums proportional der an der Oberfläche der Quecksilberkathode adsorbierten Menge von Cystin angenommen wird.

Im Rahmen dieser Mitteilung kann auf die theoretischen Grundlagen dieser Erscheinung nicht näher eingegangen werden; es sei deshalb nur eine kurze Beschreibung des den anomalen Strom hervorrufenden Mechanismus gegeben.

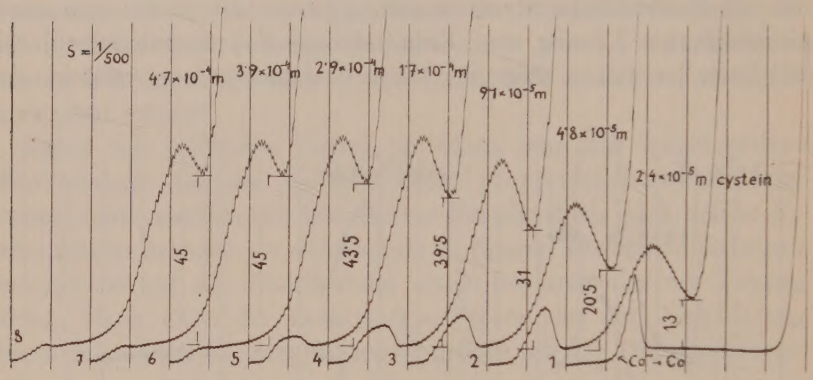


Fig. 2.

$2{,}4 \times 10^{-5}$ m — $4{,}7 \times 10^{-4}$ m Cystein in 10^{-3} n-$CoCl_2$ in 10^{-1} n-NH_4Cl in 10^{-1} n-NH_3.

Zunächst sei darauf hingewiesen, daß ein Molekül von Cystin an der Kathode zu zwei Molekeln Cystein reduziert wird, so daß die beschriebene Erscheinung primär durch Cystein verursacht wird. Dementsprechend ist der Effekt von Cystin doppelt so groß als der von Cystein bei derselben Molarkonzentration

$$RS—SR + 2\,H^+ \rightleftharpoons 2\,RSH — 2\ominus$$

Auf Grund unserer Erfahrung kann für den anomalen Stromanstieg nur Wasserstoff in Betracht kommen. Es bleibt nun zu erklären, warum die Überspannung des Wasserstoffs an der Quecksilber-Tropfkathode mittels Cystein und anderer sulfhydrylhaltigen Säuren unter geeigneten Bedingungen so stark erniedrigt wird, daß der Wasserstoff sich aus alkalischen Lösungen schon bei zirka — 1,5 V abscheidet. Die notwendige Anwesenheit von Kobaltchlorid in der Lösung zeigt, daß die Innerkomplexverbindung, die zwi-

schen Kobalt und Cystein entsteht[16], dem Cystein eine besondere Eigenschaft verleiht, welche die Abscheidung des Wasserstoffs erleichtert. Das kann man sich so vorstellen, daß die Sulfhydrylgruppe durch die koordinative Bindung mit Kobalt und durch die Adsorption an der Quecksilberoberfläche in einen starken Dipol S-H verwandelt wird. Infolge dieser Entfernung des H^+-Ions vom $-S'$-Radikal wird seine Aktivität vergrößert, so daß sich das Wasserstoff-Ion in dem elektrischen Felde der Doppelschicht bei kleinerem Potentialabfall losreißt.

Das negativ geladene Radikal $-S'$ reagiert nun mit Wasser gemäß dem Gleichgewicht

$$-S' + H_2O \rightleftarrows -SH + OH'.$$

Die Abscheidung des Wasserstoffs von $-SH$ könnte sich wiederholen, wenn die entstandenen OH'-Ionen den freien Lauf der Reaktion nicht hemmen würden. Beseitigt man diese Ionen jedoch durch NH_4-Ionen,

$$NH_4^{\cdot} + OH' \rightleftarrows NH_3 + H_2O,$$

oder durch eine andere geeignete Pufferlösung, so verschiebt sich das Gleichgewicht nach rechts, wodurch man viel größere Ströme, als der Konzentration von $-SH$ entsprechen würden, bekommt.

Auf dieser katalysierten Wasserstoffabscheidung aus Wasser mittels Cysteinkomplex mit Kobalt ist die Mikrobestimmung von Cystein, bezw. Cystin in sauren Proteinhydrolysaten begründet.

Es wurde schon erwähnt, daß die Höhe des Strommaximums ein Maß der Konzentration des Cysteins, bezw. Cystins ist und graphisch durch eine Kurve dargestellt werden kann. Wenn man eine solche Standardkurve für Lösungen bekannter Konzentration von Cystin oder Cystein anfertigt, ist es möglich, die Konzentration dieser Bestandteile in den Hydrolysaten von Proteinen unter denselben Bedingungen leicht abzulesen.

Da der katalytische Effekt noch keinen Rückschluß zuläßt, ob es sich um Cystin oder Cystein handelt, so kann man zunächst nur die Summe von Cystin und Cystein berechnen. Die besten Bedingungen für diese Bestimmung sind erfüllt, wenn man mit Cystin-

[16] M. P. SCHUBERT, Cobalt compexes of cysteine. Journ. Amer. chem. Soc., **53**, 3851 (1931).

konzentrationen von 5×10^{-6} bis 10^{-4} molar arbeitet. Benutzt man 1 ccm einer solchen Lösung zur Elektrolyse, so kann man eine Menge von 0,0012 bis 0,024 mg (1,2 bis 24 γ) bestimmen. Als großer Vorteil bei dieser mikroanalytischen Bestimmung sei erwähnt, daß der Sauerstoff nicht aus der Lösung entfernt werden muß, da man hier die Stromspannungskurven mit kleinen Empfindlichkeiten des Galvanometers registriert, wobei die Reduktion des Sauerstoffs, die außerdem in einem anderen Potentialbereich stattfindet, nicht ersichtlich wird. In diesem Falle ist eine Elektrolyse in drei Minuten durchführbar.

Experimenteller Teil.

Die Stromspannungskurven wurden mittels einer polarographischen Einrichtung registriert. Die Empfindlichkeit des Spiegelgalvanometers (HARTMANN-BRAUN), die durch Shunt beliebig geändert werden konnte, betrug $1{,}2 \times 10^{-9}$ amp./mm und seine Halbperiode 4,53 Sek. Die zu analysierende Lösung wurde in ein kleines Gefäß für 1 bis 10 ccm gebracht. Als Anode diente eine auf dem Boden des Gefäßes befindliche Quecksilberschicht und als Kathode Quecksilber, das aus einer engen Kapillare tropfte. Da die Höhe des Maximums von der Tropfgeschwindigkeit einigermaßen abhängig ist, muß man hauptsächlich darauf achten, daß die Tropfgeschwindigkeit für Messungen, die miteinander verglichen werden sollen, die gleiche ist. Um die besten Resultate zu erzielen, reguliert man die Tropfzeit des Quecksilbers zu 3 bis 4 Sekunden.

Bei nachstehenden Experimenten wurde an dem potentiometrischen Draht des Polarographen eine Spannung von 4 Volt angelegt, so daß einer Umdrehung des Rades um 360° ein Zuwachs von 200 mV entspricht, was auf den Polarogrammen durch eine vertikale Linie gekennzeichnet wird. Die Stromspannungskurven wurden nur in einem Gebiet von 0,8 bis 2 V ausgeführt, wo sich die Abscheidung von Kobalt und der katalysierte Strom befindet. Durch Ordinaten, die an den Polarogrammen die Intensität des Stromes bestimmen, kann man die Höhe des Diffusionsstromes von $Co^{\cdot\cdot}$-Abscheidung und die des Maximums messen. Konventionell wurde als Maß der Konzentration von Cystin die Höhe des katalysierten Stromes angenommen; sie ist dementsprechend auf den Polarogrammen eingezeichnet (siehe Fig. 1 und 2).

Um die Bedingungen für eine quantitative Bestimmung von Cystin festzustellen, wurden die Versuche zuerst mit Keratinen ausgeführt, da diese wegen ihres hohen Cystingehaltes am geeignetsten erschienen. 0,025 bis 0,1 g reines Wollgarn wurde mit 10 bis 25 ccm 5n-Salzsäure (18,23%) hydrolisiert. In einem ERLENMEYER-Kolben von 50 ccm Inhalt, der mit einem Rückflußkühler (Glasschliff) verbunden war, wurde die Lösung gekocht. Um gleichmäßiges Sieden zu ermöglichen, wurden einige Kapillaren, wie sie von MARKOVNIKOFF vorgeschlagen wurden, in die Lösung gegeben. Nach sechsstündigem Sieden wurde das Hydrolysat mit destilliertem Wasser auf 100 ccm verdünnt, filtriert und die Normalität der Salzsäure durch Titration bestimmt. Darauf wurden die Lösungen für die polarographische Bestimmung solchermaßen vorbereitet, daß die folgenden Konzentrationen der einzelnen Bestandteile erzielt wurden: 10^{-3} oder 2×10^{-3} n-$CoCl_2$ in 0,1 nNH_4Cl in 0,1 n-NH_3.

Für solche Lösungen wurden Kalibrationskurven festgelegt über weite Gebiete bekannter Konzentrationen von Cystin. Als Standard wurde eine Lösung von 10^{-2} molar Cystin in 1 n Ammoniak genommen. 0,4 ccm dieser Lösung wurde mit 4 (2) ccm 10^{-2} n-$CoCl_2$ + + 2 ccm 1 n-NH_4Cl + 1,6 ccm 1 n-NH_3 + 12 (14) ccm Wasser gemischt. Die daraus folgende Lösung wurde dann wiederholt in 0,5-ccm-Portionen zu einer Lösung, die dieselbe Konzentration von Ammoniak, Ammoniumchlorid und Kobaltchlorid (jedoch kein Cystin) besaß, gegeben, und nach jeder Zugabe wurde die entsprechende polarographische Kurve aufgenommen.

Auf Grund einer großen Anzahl von solchen Bestimmungen wurden die Kurven der Fig. 3 gezeichnet. Die Höhe des katalytischen Stromes wurde, wie schon oben angedeutet, abgelesen als die Differenz zwischen dem Diffusionsstrom der Kobaltabscheidung und dem Minimalstrom, der auf das Maximum der katalytischen Abscheidung folgt. Es muß erwähnt werden, daß sich die Höhe des katalytischen Stromes mit der Zeit etwas verringert, was nach der Ansicht des Verfassers auf der langsamen Bildung von Kobaltammin beruht. Deshalb war es notwendig, die Elektrolyse nur mit frischen Lösungen auszuführen, oder spätestens 15 Minuten, nachdem die Mischung vorgenommen wurde. In einem solchen Falle kann die Oxydation von Kobalt(II)salz vernachlässigt werden.

Die Genauigkeit einer einzelnen Bestimmung des Cystingehalts

beträgt $\pm 5\%$. Im Hinblick darauf, daß der Gesamtbetrag von Cystin, welcher in dieser mikroanalytischen Methode bestimmt werden kann, 0,24 mg nicht übersteigt, darf die Genauigkeit als befriedigend angesehen werden. Weiterhin kann die Genauigkeit noch bedeutend verbessert werden, da die Möglichkeit besteht, die Elektrolyse mehrere Male zu wiederholen oder Kurven mit verschiedenen Verdünnungen des Hydrolysats zu registrieren. Da die Abweichungen einzelner Messungen vom Durchschnitt Zufällen unterliegen, muß der Durchschnittswert bedeutend größere Genauigkeit besitzen als die oben genannte für eine einzelne Bestimmung.

Um dies zu veranschaulichen, wird das folgende Beispiel genauer beschrieben: 0,0343 g Wollgarn wurde mit 10 ccm 5 n-Salzsäure sechs Stunden gekocht. Nachdem die Hydrolyse beendet war, wurde die Lösung mit Wasser auf 100 ccm verdünnt, filtriert und gegen Ammoniaklösung titriert, die auch in der Zubereitung der Lösungen für die Elektrolyse verwendet wurde. Die Salzsäure wurde 0,45 n gefunden. Von diesem Hydrolysat wurden vier Lösungen zubereitet in folgender Reihenfolge:

1. 1 ccm 10^{-2} n-$CoCl_2$ + 6 ccm Wasser + 0,55 ccm 1 n-NH_4Cl — + 1,45 ccm 1 n-NH_3 + 1 ccm Hydrolysat.
2. 1 ccm 10^{-2} n-$CoCl_2$ + 6 ccm Wasser + 0,1 ccm 1 n-NH_4Cl + + 1,90 ccm 1 n-NH_3 + 2 ccm Hydrolysat.
3. 2 ccm 10^{-2} n-$CoCl_2$ + 5 ccm Wasser + 0,55 ccm 1 n-NH_4Cl + + 1,45 ccm 1 n-NH_3 + 1 ccm Hydrolysat.
4. 2 ccm 10^{-2} n-$CoCl_2$ + 5 ccm Wasser + 0.1 ccm 1 n-NH_4Cl + + 1,9 ccm 1 n-NH_3 + 2 ccm Hydrolysat.

Auf diese Weise war das eigentliche Hydrolysat in den Lösungen 1 und 3 je 100 mal, in den Lösungen 2 und 4 je 50mal verdünnt worden. Es empfiehlt sich, von jeder dieser Lösungen zur Kontrolle zwei Portionen zu bereiten. Nach der Elektrolyse wurde die Konzentration des Cystins in den Lösungen 1 und 2 von der Kalibrationskurve I, die in den Lösungen 3 und 4 beziehungsweise von Kurve II (siehe Fig. 3) abgelesen. Die Cystinkonzentrationen der Lösungen 1 und 3 sollten dann einander gleich sein; so auch die der Lösungen 2 und 4. Die letzteren würden dann einen doppelt so großen Cystingehalt aufweisen als die ersteren. Als Durchschnitts-

wert der acht Versuche wurde ein Cystingehalt von 9,56% festgestellt, wobei die Werte zwischen 10,07 und 9,18% schwankten.

Auf ähnliche Weise wurde Cystin in Menschenhaar von verschiedener Farbe und Weichheit bestimmt. Die einzelnen Unterschiede im Cystingehalt, die mit Sicherheit festgestellt werden konnten, schienen eher mit dem Grade der Weichheit des Haares im Zu-

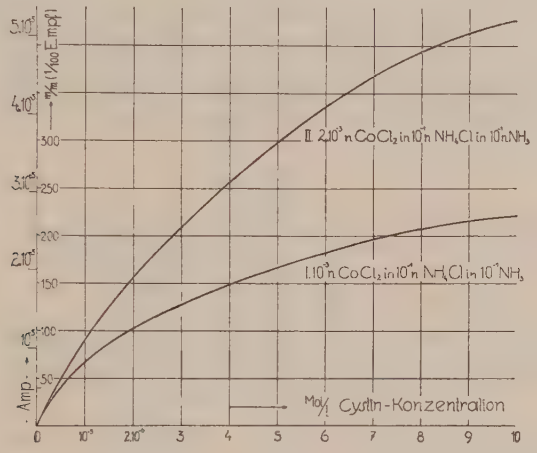


Fig. 3.

Kalibrationskurven mit Standardlösung von Cystin zur Bestimmung von Cystingehalt in Hydrolysaten von Proteinen.

sammenhang zu stehen als mit seiner Farbe. Die groben und steifen Haare enthalten weniger Cystin als die feinen und weichen. Einige Ergebnisse dieser Untersuchung zeigt Tabelle I und Fig. 4.

Es war naheliegend, daß eine viel geringere Menge von Proteinsubstanz als die oben angeführte für eine polarographische Analyse genügen würde. Es war dann nur nötig, die Hydrolyse in weniger Salzsäure auszuführen. So wurde für eine solche Mikroanalyse 0,5 bis 0,7 mg Haar (was einem einzigen Haar von 6 bis 8 cm Länge entspricht) als genügend gefunden (Fig. 4, Kurve 1 b); dieses wurde mit 1 ccm 5 n-HCl sechs Stunden lang in einem Reagenzglas von 10 ccm Kapazität hydrolysiert.

Ein solches Reagenzglas muß durch Glasschliff mit einem Rückflußkühler verbunden sein. Nach vollendeter Hydrolyse wird die Lösung auf 10 ccm mit Wasser verdünnt, die Salzsäure mit Ammoniak

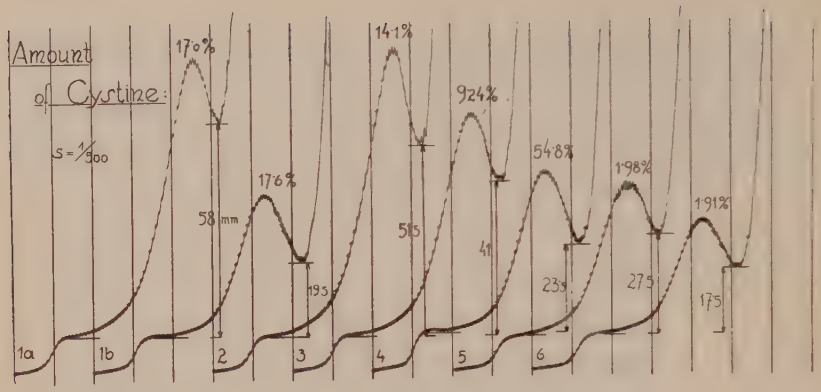


Fig. 4.

50mal verdünnte Lösung von 1 a) 0,0342 g Menschenhaar A,
1 b) 0,00075 g Menschenhaar A (in 1 cm^3),
2) 0,0341 g Menschenhaar B,
3) 0,0377 g Wolle,
4) 0,0031 g Glutathion*,
5) 0,1029 g Albumin aus Blut,
6) 0,0597 g Albumin aus Ei,
hydrolysiert durch 10 cm^3 5 n-HCl und elektrolysiert in 2×10^{-3} n-$CoCl_2$ in 10^{-1} n-NH_4Cl in 10^{-1} n-NH_3.

neutralisiert und Lösung 2 (und 4) (siehe oben) zubereitet. Da die hierbei zustande kommenden Lösungen Cystin ungefähr in denselben Konzentrationen enthalten wie bei den oben angegebenen Versuchen, dürfen wie vorher dieselben Kalibrationskurven für die Bestimmung des Cystins genommen werden. Die Genauigkeit der Cystinbestimmung in solch kleinen Mengen von Protein wird nicht viel geringer ($\pm$ 7% der Gesamtmenge von Cystin); dies beruht jedoch nicht auf der polarographischen Methode, sondern auf den Vorbereitungen, die zu jeder Mikroanalyse notwendig sind: so kann man schon beim Wiegen mit gewöhnlicher analytischer Waage einen Fehler machen, der 5% übersteigt.

Um festzustellen, ob Cystin in einer kochenden Lösung von Salzsäure genügend beständig ist, wurde folgender Versuch gemacht. 10 ccm einer 5×10^{-4}-m-Lösung von Cystin wurde in 5 n-Salzsäure sechs Stunden gekocht. Die polarographische Analyse zeigte, daß

* Der gefundene Wert für den Cystingehalt bei Glutathion ist größer (54%), als theoretisch zu erwarten ist (39,23%). Eine Erklärung dieses Wertes ist bis jetzt noch nicht eindeutig gefunden, vermutlich aber beruht diese auf der Isomerie von Cystin, die bei dem Glutathion stattfindet.

der Cystingehalt nach dieser Behandlung mit dem ursprünglichen Gehalt gut übereinstimmte.

Da die Bestimmung von Cystin in Keratinen gut reproduzierbar war und Resultate lieferte, die im allgemeinen gut mit den in der Literatur gegebenen Werten übereinstimmte, wurde der Versuch gemacht, dieselbe Methode zur Bestimmung von Cystin in anderen Proteinen anzuwenden. Die oben beschriebene Behandlung wurde auch in diesem Falle als zufriedenstellend befunden. So stimmte beispielsweise der polarographisch bestimmte Cystingehalt in „Albumin aus Blut“ und „Albumin aus Ei“ (Dr. Fränkel und Dr. Landau) mit den Literaturwerten gut überein (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

	% Cystin Mittelwert	Ergebnisse anderer Autoren
Reinstes Wollgarn .	9,6	9,57 “Welsh mountain birth-coat”[17] 12,6 “Welsh mountain wool”[17] 7,3 Keratin aus Schafwolle[18]
Menschenhaar A (braun)	17,6	
Menschenhaar B (blond, weich) . .	17,8	
Menschenhaar C (Kinderhaar, weiß)	17,0	13,92 (Minimalwert)[19] 14,53 (braunes Haar)[20]
Menschenhaar D (blond, grob) . .	16,6	11,55 (weißes Haar)[21]
Menschenhaar E (rot, sehr grob) .	14,1	

[17] C. Rimington, The relation between cystine yield and total sulphur in kemp and outer-cout animal fibres. Biochem. Journ., **25**, 71 (1931).

[18] E. Abderhalden und A. Voitinovici, Hydrolyse des Keratins aus Horn und Wolle. Ztschr. physiol. Chem., **52**, 348 (1907).

[19] K. A. H. Mörner, Zur Kenntnis der Bindung des Schwefels in den Proteinstoffen. Ztschr. physiol. Chem., **34**, 207 (1902).

[20] H. Buchtala, Über das Mengenverhältnis des Zystins in verschiedenen Hornsubstanzen. Ztschr. physiol. Chem., **52**, 474 (1907).

[21] H. Buchtala, Über das Keratin der weißen Menschenhaare. Ztschr. physiol. Chem., **85**, 246 (1913).

	% Cystin Mittelwert	Ergebnisse anderer Autoren
Albumin aus Blut .	2,0	2,06—2,27[19] 2,3[22] 2,52[23]
Albumin aus Ei . .	2,0	2,31[22] 2,27[23]
Menschenserum . .	0,23	
Serum-Protein . .	2,9	
Serum-Albumin . .	3,4	2,5—4,23[24] 2,27[19]
Serum-Globulin . .	1,6	1,2—2,3[24] 1,51[19]
Menschliche Augenlinse . . .	1,5—0,8[25]	

Um die Gegenwart von Cystin in Albuminen und Globulinen festzustellen, wurden folgende Versuche ausgeführt. 0,5 ccm (0,51 g) Menschenserum wurde, wie oben beschrieben, 10 Stunden lang mit 20 bis 25 ccm 4 n-Salzsäure hydrolysiert. Eine gleiche Quantität des Serums wurde mit 50% gesättigter Ammoniumsulfatlösung fraktioniert, gemäß dem üblichen Verfahren zur Trennung von Albuminen und Globulinen. Das Gesamtvolumen der Flüssigkeit war in diesem Falle 5 ccm. Beide Fraktionen wurden dann in der gleichen Weise wie das Serum hydrolysiert. Nach vollendeter Hydrolyse wurde dann jedes der drei Hydrolysate auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und filtriert; dann wurden die Lösungen, wie oben beschrieben, für die polarographische Analyse vorbereitet. (Bei der Albuminfraktion waren Ammoniumionen schon vorhanden, da Ammoniumsulfat zum Aussalzen verwendet wurde.) Die Lösungen

[22] S. L. Tompsett, A note on the determination of cystine in proteins by the method of Folin and Marenzi. Biochem. Journ., **25**, 2014 (1931).

[23] H. D. Baernstein, The sulphur distribution in proteins. Journ. Biol. Chem., **97**, 669 (1932).

[24] O. Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1926, S. 83.

[25] B. Gosman und J. Franta, Polarografické určení cystinu v čočce, Československá Ofthalmologie, č. 1, 1933.

konnten von Hydrolysaten, die 50- bis 20fach verdünnt waren, zubereitet werden (Fig. 5).

Eine größere Verdünnung kann nicht empfohlen werden, da die Hydrolysate Säure in hoher Konzentration enthalten, die mit Ammoniak nicht neutralisiert werden kann, da sonst die Konzentration von NH_4Cl 0,1 n übersteigen würde. Wird statt Ammoniak Kaliumhydroxyd zur Neutralisation benutzt, so enthält die Lösung zuviel KCl, das auch einen Einfluß auf die Höhe des katalytischen Stromes ausübt.

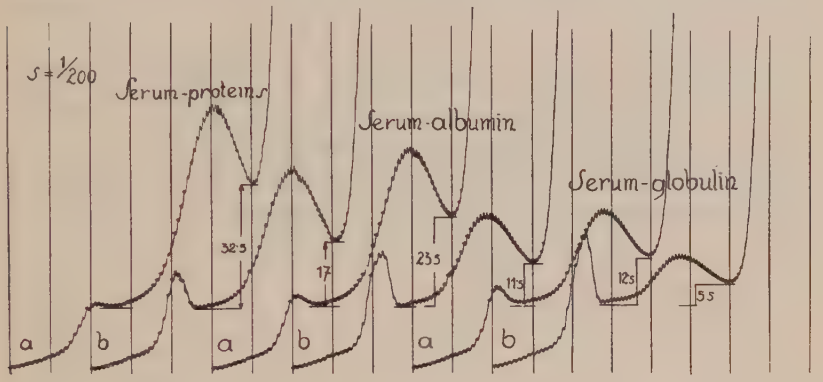


Fig. 5.

a) 20mal, b) 50mal verdünntes Hydrolysat von Proteinen, Albuminen und Globulinen aus 0,51 g menschlichem Serum, gekocht mit 25 cm^3 4 n-HCl, elektrolysiert in 10^{-3} n-$CoCl_2$ in 10^{-1} n-NH_4Cl in 10^{-1} n-NH_3.

Mehrere Analysen, in welchen der Gehalt von Proteinen, Albuminen und Globulinen in Menschenserum immer gravimetrisch bestimmt wurde, haben gezeigt, daß Albumine ungefähr zweimal soviel Cystin enthalten als Globuline. Die Summe von Cystin in beiden Fraktionen ergibt natürlich den Cystingehalt in nicht vorbehandeltem Protein.

Zusammenfassung.

Es wird eine polarographische Mikrobestimmung von Cystin, bezw. Cystein in Hydrolysaten von Proteinen beschrieben. Sie beruht auf der durch Cystein-Kobalt-Komplex verursachten katalysierten Wasserstoffabscheidung an der Quecksilber-Tropfkathode in Pufferlösungen.

Cystin wurde in Wolle, Menschenhaar, Albumin aus Blut, Albumin aus Ei, Serum-Albumin und Serum-Globulin bestimmt. Die experimentellen Ergebnisse stimmen mit den in der Literatur beschriebenen überein.

Die besten Bedingungen für diese Bestimmung sind erfüllt, wenn man mit Cystin-Konzentrationen von 5×10^{-6} m bis 10^{-4} m in einer Lösung von $1—2 \times 10^{-3}$ n-$CoCl_2$, 10^{-1} n-NH_4Cl, 10^{-1} n-NH_3 arbeitet. Dies entspricht 0,012 bis 0,24 mg Cystin in 10 ccm Elektrolytlösung. Es genügt jedoch auch 1 ccm, wobei eine zehnmal kleinere absolute Menge von Cystin bestimmt werden kann, das heißt bis 1 γ.

Die Genauigkeit einer Bestimmung ist $\pm$ 5% des Cystingehalts. Dies kann jedoch durch leicht (in drei Minuten) zu wiederholende Versuche mit derselben Lösung verbessert werden.

Als Beispiel wurde angeführt die Bestimmung von Cystin in 0,0005 g Menschenhaar, die die gleiche Genauigkeit erzielte.

Über die Verwendung von Tüpfelreaktionen zum Nachweis von organischen Verbindungen. (IV.)

Von

F. Feigl, V. Anger und O. Frehden.

Aus dem II. Chemischen Universitätslaboratorium in Wien.

(Eingelangt am 28. März 1934.)

Nachweis von Nitrosoverbindungen.

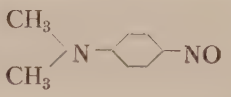
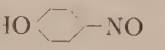
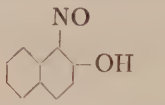
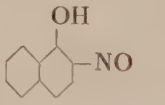
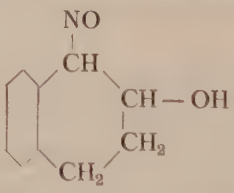
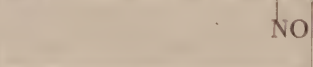
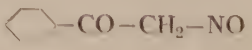
Zum Nachweis von Nitrosoverbindungen wird vielfach die Liebermann'sche Reaktion[1] verwendet, welche auf der Überführung von Phenol durch labile Nitrosogruppen in farbiges Nitrosophenol beruht. Dieser Nachweis läßt sich auch in Form einer Tüpfelreaktion ausführen.

Ausführung: In einen Mikrotiegel bringt man ein Körnchen reines Phenol, setzt einige Stäubchen der zu untersuchenden Substanz zu und erhitzt über einem Mikrobrenner zum Schmelzen. Zu der erkalteten Schmelze gibt man wenige Tropfen reinste konzentrierte Schwefelsäure, worauf sich die Probe dunkelkirschrot färbt; nach Verdünnen mit etwas Wasser macht man durch Zusatz von einigen Tropfen 4n-Natronlauge alkalisch, wobei die Lösung tiefblau wird. Statt der festen Substanz kann auch die ätherische Lösung verwendet werden, die sich leicht eindunsten läßt.

Die bei verschiedenen Nitrosoverbindungen mit diesem Nachweis erreichbaren Erfassungsgrenzen sind in Tabelle I eingetragen.

[1] B., **15**, 1529; **16**, 1473; **20**, 3231.

Tabelle I.

Nr.	Name	Formel	Liebermann-Reaktion		Baudisch-Reaktion	
			Erfassungsgrenze	Farbumschlag	Erfassungsgrenze	Farbe
1	p-Nitrosodimethylanilin		0,5 γ	rosa-gelbgrün	0,15 γ	smaragdgrün
2	p-Nitrosophenol		0,4 γ	rot-blau	0.15 γ	dunkelgrün
3	α-Nitroso-β-Naphthol		0,5 γ	rot-blau	1 γ	olivgrün
4	β-Nitroso-α-Naphthol		0,6 γ	rot-grün	1 γ	olivgrün
5	Tetrahydro-β-Nitroso-α-Naphthol		0,5 γ	rot-grün	—	keine Reaktion
6	Isonitroso-acetylaceton		1 γ	dunkelrot bis grüngelb	2,5 γ	braun-lila
7	Isonitroso-acetophenon		1 γ	ziegelrot bis gelb	3 γ	grün

Eine andere und einfachere Nachweismöglichkeit bietet die Tatsache, daß nach F. BAUDISCH[2] Nitrosoverbindungen mit bestimmten Prussosalzen tief gefärbte Komplexverbindungen liefern. Geeignet hierzu sind Natriumpentacyanoaquoferroat $Na_3[Fe(CN)_5H_2O]$ und Natriumpentacyanoamminferroat $Na_3[Fe(CN)_5NH_3]$.

Es werden bei diesér Reaktion das H_2O- oder NH_3-Molekül der Prussosalze durch ein Molekül der Nitrosoverbindung ausgetauscht:

$$Na_3[Fe(CN)_5NH_3] + R\text{-}NO = NH_3 + Na_3[Fe(CN)_5(R\text{-}NO)]$$

Auch diese Farbreaktion kann zum Nachweis von Nitrosoverbindungen in Form einer Tüpfelreaktion verwendet werden.

Außer Nitrosoverbindungen reagieren mit Prussosalzen noch einige Thioaldehyde und einige Thioketone[3] unter Blaufärbung sowie gewisse Abkömmlinge des Hydrazins unter Rot- bis Violettfärbung (siehe unten).

Ausführung: Auf einer Tüpfelplatte wird ein Tropfen der Probelösung und einige Tropfen einer frisch bereiteten zirka 1%igen Lösung von Natriumpentacyanoamminferroat vereinigt; nach kurzem Stehen tritt eine intensive Grün-, seltener Violettfärbung auf.

Die mit diesem Nachweis erreichbaren Erfassungsgrenzen sind gleichfalls in Tabelle I eingetragen.

Darstellung von Natriumpentacyanoamminferroat[4]: Nitroprussidnatrium wird mit der dreifachen Menge konz. Ammoniak übergossen und unter Eiskühlung 24 Stunden stehengelassen, dann verdünnt man mit Alkohol und saugt ab und wäscht mit Alkohol nach.

Nachweis von Nitroverbindungen.

Die vorstehend erwähnte Farbreaktion auf Nitrosoverbindungen mit Natriumpentacyanoamminferroat läßt sich auch zum Nachweis von Nitroverbindungen verwenden, wenn man für Reduktion der Nitrogruppe zur Nitrosogruppe Sorge trägt. Diese Reduktion läßt sich elektrolytisch in einem Tropfen der Probelösung durchführen[5]. Man elektrolysiert in neutraler oder alkalischer Lösung bei Gegen-

[2] B., **54**, 413; **55**, 2702; **62**, 2699, 2706.
[3] H. W. SCHWECHTEN, B., **65**, 1734 (1932).
[4] K. A. HOFMANN, A., **312**, 21 (1900).
[5] O. DIEFFENBACH, D. R. P. 192.519; C., **1908**, I, 911.

wart von Natriumpentacyanoamminferroat zwischen einer Nickel- und einer Bleielektrode.

Ausführung: Ein Tropfen der zu untersuchenden alkoholischen oder wässerigen Lösung wird in einem Mikrotiegel mit einem Tropfen einer frisch bereiteten 1%igen Natriumpentacyanoamminferroatlösung und einem Tropfen 4n-Alkali versetzt; falls nach Zusatz des Alkalis eine Verfärbung auftritt, nimmt man statt dessen einen Tropfen einer 5%igen Natriumsulfatlösung als Leitsalz.

In die im Mikrotiegel befindliche Lösung wird ein Nickeldraht als Kathode und ein Bleidraht als Anode eingetaucht und der Strom aus einer Taschenlampenbatterie (oder einem 4-Volt-Akkumulator) durchgeleitet. Die Dauer der Elektrolyse beträgt mindestens 10 Minuten, bei kleinen Mengen bis zu ½ Stunde. Während der Elektrolyse verfärbt sich die Flüssigkeit und die Farbtiefe nimmt beim Stehen noch beträchtlich zu. Zumeist tritt eine Grün-, seltener Violettfärbung auf.

Eine Blindprobe bei Verwendung von Natriumsulfat verändert seine schwach gelbe Färbung nicht, bei Verwendung von Alkali tritt eine unbedeutende Vertiefung des gelben Farbtones ein.

Die nach dieser Methode beim Nachweis verschiedener Nitroverbindungen erreichbaren Erfassungsgrenzen sind in Tabelle II eingetragen.

Die vorstehende Reaktion auf Nitroverbindungen läßt sich zur Unterscheidung von verschiedenen Sorten künstlichen Moschus (Xylol- und Toluolmoschus von Exalton) sowie zur Erkennung von Beimischungen des billigeren Xylol-, bezw. Toluolmoschus zu dem wertvolleren Ketonmoschus verwenden, da nur die Nitrogruppen enthaltenden Xylol-, bezw. Toluolmoschussorten reagieren und durch den positiven Ausfall der Reaktion kenntlich werden.

Nachweis von organischen Hydrazinderivaten.

Bei der Elektrolyse von Nitroverbindungen zu Nitrosoverbindungen machten wir die Beobachtung, daß sich eine Lösung von p-Nitrophenylhydrazin mit Natriumpentacyanoamminferroat violett färbt. Es wurden deshalb noch andere Hydrazine auf ihr Verhalten gegen Natriumpentacyanoamminferroat geprüft und gefunden, daß

hierbei durchgehend Farbreaktionen auftreten. Auch hier vertieft sich die Farbe beim Stehen, die Reaktion tritt langsam ein.

Über die Natur der dabei entstehenden Stoffe kann nichts Bestimmtes ausgesagt werden; vermutlich handelt es sich hierbei, analog wie bei dem Nachweis von Nitrosoverbindungen, um den Ersatz des NH_3-Moleküls im Natriumpentacyanoamminferroat durch ein Molekül des Hydrazins.

Da diese Reaktion auf Hydrazine sehr empfindlich ist, kann sie in Form eines Tüpfelnachweises verwendet werden.

Ausführung: Zu einer neutralen wässerigen oder alkoholischen Lösung der zu untersuchenden Substanz werden mehrere Tropfen einer 1%igen Natriumpentacyanoamminferroatlösung zugesetzt und einige Zeit stehengelassen. Es treten intensive rote bis violette Färbungen auf. Beim Alkalisieren tritt bei einigen Substanzen ein Farbumschlag nach Gelb ein.

Die nach dieser Methode erreichbaren Erfassungsgrenzen sind in Tabelle III eingetragen.

Tabelle II.

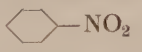
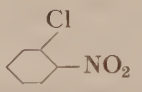
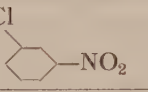
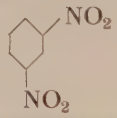
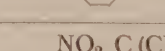
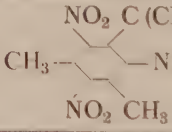
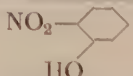
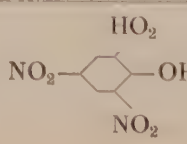
Nr.	Name	Formel	Erfassungsgrenze in γ	Farbe	Anmerkung
1	Nitrobenzol		1,5	dunkelviolett	
2	o-Chlornitrobenzol		2	dunkelgrün-braun	
3	m-Chlornitrobenzol		3	grün	
4	p-Chlornitrobenzol		15	grün	
5	p-Nitrobrombenzol		4	lila bis violett	
6	m-Dinitrobenzol		3	braunviolett	
7	o-Nitrotoluol		7	rotlila bis violettrot	
8	p-Nitrotoluol		8	lila bis violett	
9	Künstlicher Moschus		2,5	rötlich. rotgelb	Lösungsmittel Methylalkohol + Äthylalkohol
10	o-Nitrophenol		0,4	schwarzgrün	
11	p-Nitrophenol		0,4	dunkel-smaragdgrün	
12	Pikrinsäure		8	dunkel-olivgrün	

Tabelle II. (Fortsetzung.)

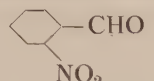
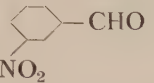
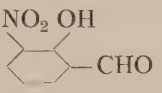
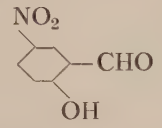
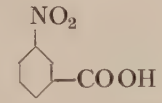
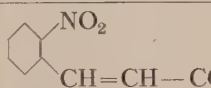
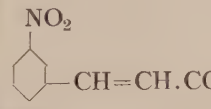
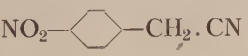
Nr.	Name	Formel	Erfassungsgrenze in γ	Farbe	Anmerkung
13	o-Nitrobenzaldehyd		2,5	olivgrün	
14	m-Nitrobenzaldehyd		4	olivgrün	
15	p-Nitrobenzaldehyd		4	dunkelgrün	
16	3-Nitrosalicylaldehyd		4	olivgrün	
17	5-Nitrosalicylaldehyd		2	olivgrün	
18	m-Nitrobenzoësäure		8	lila	
19	p-Nitrobenzoësäure		2,5	dunkelgrün	
20	o-Nitrozimtsäure		3	dunkel-olivgrün	
21	m-Nitrozimtsäure		4	dunkelgrün	
22	p-Nitrozimtsäure		3	rotbraun bis braungrün	
23	p-Nitrophenylessigsäure-nitril		3	blaugrün	Leitsalz lediglich Na_2SO_4

Tabelle II. (Fortsetzung.)

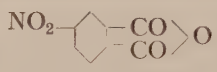
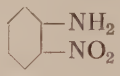
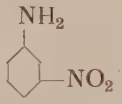
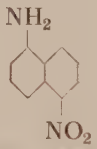
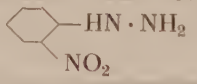
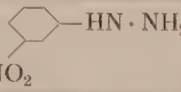
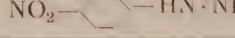
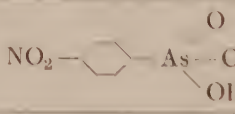
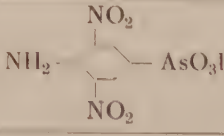
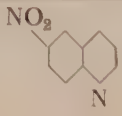
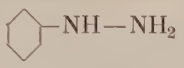
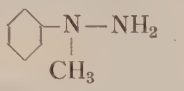
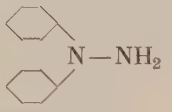
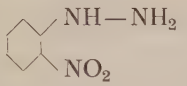
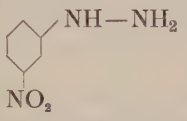
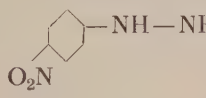
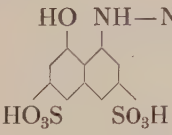
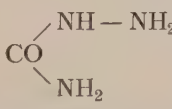
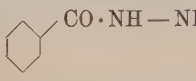
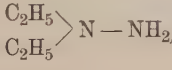
Nr.	Name	Formel	Erfassungsgrenze in γ	Farbe	Anmerkung
24	Nitrophthalsäure-anhydrid		7	lila bis braun	
25	o-Nitranilin		4	dunkel-moosgrün	
26	m-Nitranilin		4	braungrün bis grünbraun	
27	p-Nitranilin		0,25	smaragdgrün bis blaugrün	
28	1,5-Nitronaphthylamin		0,3	dunkelbraun bis braungrün	
29	o-Nitrophenylhydrazin		0,5	grün	
30	m-Nitrophenylhydrazin		1,5	grün	
31	p-Nitrophenylhydrazin		0,5	graugrün	
32	Nitrophenylarsinsäure		12	schmutzig-grün	
33	Dinitroarsanilsäure		3	moosgrün	
34	6-Nitrochinolin		5	hellgrün	

Tabelle III.

Nr.	Name	Formel	Erfassungsgrenze in γ	Farbe (neutral)	Farbe (alkalisch)
1	Phenylhydrazin		0,5	rot	rot
2	Methylphenylhydrazin		3	blutrot	dunkelblutrot
3	Diphenylhydrazin		7	violett	ziegelrot
4	o-Nitrophenylhydrazin		1	dunkelbraun-rot	hellgelb
5	m-Nitrophenylhydrazin		0,4	kirschrot	braungelb
6	p-Nitrophenylhydrazin		0,5	blauviolett	braungelb
7	8-Oxy-3,6-Disulfosäure-Naphthylhydrazin (1)		3	dunkelviolett	lichtrotgelb
8	Semicarbazid		0,3	kirschrot	dunkelgelb
9	Benzoesäurehydrazid		0,12	tiefviolett	strohgelb
10	Diaethylhydrazin		0,6	dunkelkirschrot	goldgelb

Über die Verwendung von Tüpfelreaktionen zum Nachweis von organischen Verbindungen. (V.)

Von

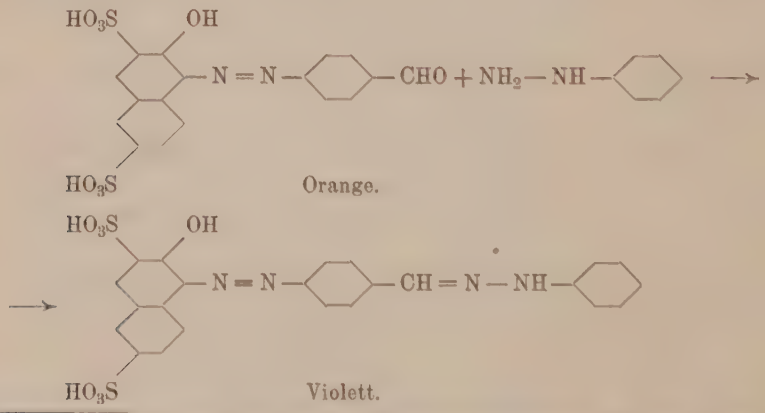
F. Feigl, V. Anger und **R. Zappert.**

Aus dem II. Chemischen Universitätsinstitut Wien.

(Eingelangt am 11. Mai 1934.)

Nachweis von Hydrazinderivaten.

Nach D. R. P. 85.233[1] liefern Azofarbstoffe, die durch Kupplung von diazotiertem p-Aminobenzaldehyd mit Naphthol- und Aminonaphtholsulfosäuren entstehen, bei der Einwirkung von organischen Hydrazinderivaten Hydrazone, die zum Teil bedeutend tiefere Farben besitzen als die zugrunde liegenden Farbstoffe. Beispielsweise hat der Azofarbstoff aus diazotiertem p-Aminobenzaldehyd und R-Säure (2-Oxy-Naphthalin-3,6-Disulfosäure) in wäßriger Lösung eine orangegelbe Farbe, die bei Zusatz von substituierten Hydrazinen in Violett umschlägt. Es handelt sich hierbei um folgende Umsetzung:



[1] P. Friedländer, Handbuch der Teerfarbenindustrie, IV (1905), 705.

Wir haben eine große Anzahl von derartigen Farbstoffen auf ihr Verhalten gegen Hydrazine geprüft und gefunden, daß die Stärke der Farbvertiefung sowohl von der Art des Farbstoffes wie auch von dem verwendeten Hydrazin abhängt. Auf Grund unserer Versuche können wir die folgenden vier Farbstoffe für den Nachweis von Hydrazinen empfehlen.

1. Azofarbstoff aus diazotiertem p-Aminobenzaldehyd und Croceinsäure (2-Naphthol-8-Sulfosäure) (gelb).
2. Azofarbstoff aus diazotiertem p-Aminobenzaldehyd und Schäffersäure (2-Naphthol-6-Sulfosäure) (orangegelb).
3. Azofarbstoff aus diazotiertem p-Aminobenzaldehyd und R-Säure (2-Naphthol-3,6-Disulfosäure) (orange).
4. Azofarbstoff aus diazotiertem p-Aminobenzaldehyd und Nigrotinsäure (2,8-Dioxynaphthalin-6-Sulfo-4-Carbonsäure) (hell kirschrot).

Die Farben beziehen sich auf sehr verdünnte, schwach essigsaure, wäßrige Lösung. In festem, reinem Zustand sind diese Farbstoffe noch nicht isoliert worden.

Ausführung: Man bringt in einen Mikrotiegel einen Tropfen der verdünnten essigsauren Farbstofflösung, einen Tropfen 10%ige Natriumacetatlösung und setzt hierauf einen Tropfen der wäßrigen oder alkoholischen Probelösung hinzu. Bei großen Hydrazinmengen tritt fast sofort Umfärbung ein, bei kleineren Mengen findet der Umschlag innerhalb einer Viertelstunde statt, und es empfiehlt sich dann die Anstellung einer Blindprobe. Hydrazin selbst gibt einen Niederschlag.

Herstellung des Reagens: p-Aminobenzaldehydchlorhydrat wird in verdünnter Salzsäure suspendiert und mit der berechneten Menge Natriumnitrit (1 Mol Nitrit auf 1 Mol Amin) diazotiert; die Diazoniumsalzlösung wird zu der in überschüssiger Soda gelösten äquivalenten Menge der Naphtholsulfosäure gegossen und schließlich mit Essigsäure angesäuert. Die Farbstofflösungen sind haltbar.

Die mit den verschiedenen Reagenzien und Hydrazinen erzielten Erfassungsgrenzen sind aus der Tabelle I ersichtlich.

Nachweis von aromatischen und $\alpha\beta$-ungesättigten Aldehyden.

Das von FEIGL und Mitarbeitern[2] zu Nachweisen von Nitroso- und Hydrazinverbindungen verwendete Natrium-Pentacyanoamminferroat liefert, wie H. W. SCHWECHTEN[3] gezeigt hat, auch mit gewissen Thioketonen sowie mit aromatischen und $\alpha\beta$-ungesättigten Aldehyden bei Gegenwart von Schwefelwasserstoff intensive Blaufärbungen. Bei der Reaktion der Aldehyde handelt es sich vermutlich um die Bildung von Thioaldehyden, die normalerweise leicht polymerisieren, bei Gegenwart von Pentacyanoamminferroat aber gemäß der nachstehenden Gleichung in monomolekularer Form mit dem Ferroat unter Ersatz eines NH_3-Moleküls reagieren:

$$R\text{-}CHO + H_2S = R\text{-}CHS + H_2O$$

$$Na_3[Fe(CN)_5NH_3] + R\text{-}CHS = Na_3[Fe(CN)_5(R\text{-}CHS)] + NH_3$$

Wir haben versucht, diese schöne Farbreaktion zu einem Mikronachweis auf aromatische Aldehyde zu verwenden, wobei die Ausführung der Reaktion etwas modifiziert werden mußte.

Ausführung: In einem Mikrotiegel wird ein Tropfen etwa 1%iger Prussosalzlösung mit einem Tropfen 2%iger polysulfidfreier Ammoniumhydrosulfidlösung und ein Tropfen der wäßrigen oder alkoholischen Probelösung mit etwa halbnormaler Essigsäure versetzt. Es tritt nach kurzer Zeit intensive Blau-, bei kleinen Mengen Grünblaufärbung ein.

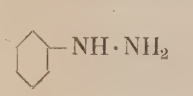
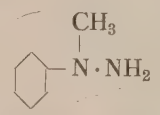
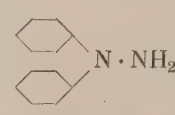
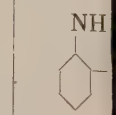
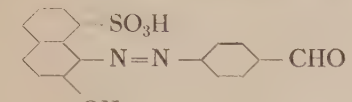
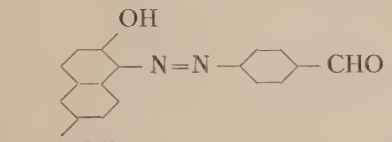
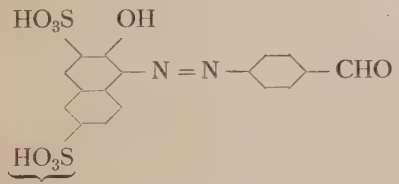
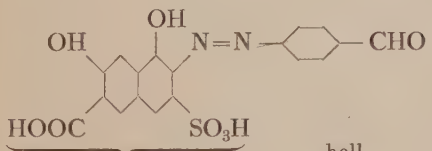
Zu beachten ist, daß ein Überschuß an Essigsäure auch bei einer Blindprobe eine bläuliche Trübung hervorrufen kann und deshalb die Stärke der Essigsäure auf die verwendete Hydrosulfidlösung abzustimmen ist.

Die mit dieser Reaktion erreichbaren Erfassungsgrenzen sind aus Tabelle II zu entnehmen.

---

[2] F. FEIGL, V. ANGER u. O. FREHDEN, Mikrochemie, XV, 183 (1934).

[3] B. 65, 1734 (1932).

Reagens, Farbe der essigsauern Lösung	Verwendetes Hydr					
	$NH_2 \cdot NH_2$	$(CH_3)_2N \cdot NH_2$				
 Croceinsäure — gelb	5 γ roter Nd.	—	1 γ karmin	2 γ braunrot	1 γ rotbraun	1 brau
 Schöffersäure — orangegelb	50 γ orange	—	1 γ rotorange	25 γ rotorange	5 γ rosa	1 hellb
 R-Säure — orange	25 γ purpur Nd.	—	1 γ violett	2 γ purpur	5 γ rotviolett	1 roth
 Nigrotinsäure — hell kirschrot	2 γ blauvioletter Nd.	50 γ violett	1 γ blauviolett	2 γ rotviolett	2 γ purpur	1 br

n, Farbe des Hydrazins und Erfassungsgrenze

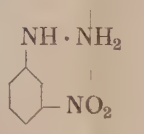
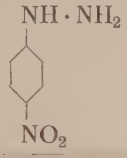
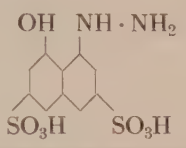
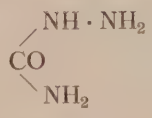
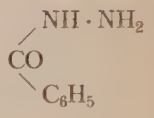
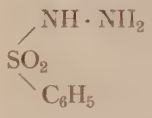
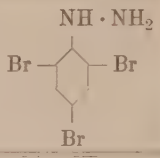
							
t	1 γ violett	1 γ rotbraun	50 γ Farbvertiefung	1 γ braunrot	5 γ orange	15 γ rotorange	3 γ kirschrot
n	5 γ violett	5 γ grünbraun	50 γ Farbvertiefung	2 γ braunviolett	200 γ braun	20 γ orange	2 γ roter Nd.
n	1 γ violett	1 γ dunkelbraun	50 γ Farbvertiefung	1 γ karmin	5 γ rotviolett	20 γ kirschrot	4 γ lila
	1 γ violett	1 γ braun	10 γ violett	1 γ lila	5 γ blauviolett	15 γ violett	1 γ violetter Nd.

Tabelle II.

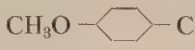
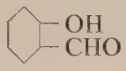
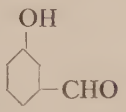
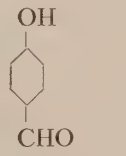
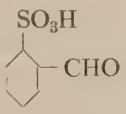
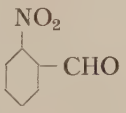
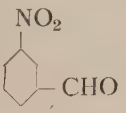
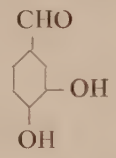
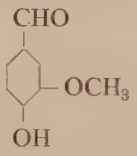
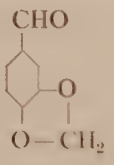
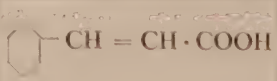
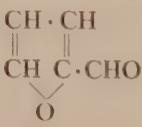
Name	Formel	Erfassungsgrenze	Farbe
Benzaldehyd		1 γ	blau
Anisaldehyd		2 γ	blau
Salicylaldehyd		2 γ	blau
m-Oxybenzaldehyd		1 γ	blau
p-Oxybenzaldehyd		2 γ	blau
Benzaldehyd-o-Sulfosäure		3 γ	blau
o-Nitrobenzaldehyd		4 γ	blau
m-Nitrobenzaldehyd		1 γ	blau

Tabelle II (Fortsetzung).

Name	Formel	Erfassungsgrenze	Farbe
p-Nitrobenzaldehyd		2 γ	blau
Protocatechualdehyd		1 γ	blau
Vanillin		1 γ	blau
Heliotropin		1 γ	blau
o-Phthalaldehyd		1 γ	blau
Zimmtaldehyd		2 γ	blau
Furfurol		1 γ	blau

Über die Bestimmung des Broms im Blute.

Von

Fritz Hartner.

Aus dem Chem.-Serol. Laboratorium der Städtischen und Universitätsklinik für Gemüts- und Nervenkranke in Frankfurt a. M.

(Eingelangt am 6. April 1934.)

Die von mir in einer früheren Arbeit[1] angegebene Methode zur Bestimmung kleinster Brommengen neben einem großen Chlorüberschuß setzt als Ausgangsmaterial eine rein anorganische Halogenidlösung voraus, die außer Cl′ und Br′ nur indifferente An- und Kationen enthält. Eine solche kann man aus Blut (wie auch aus anderem organischem Material) durch Veraschung im Nickeltiegel mit KOH gewinnen; diesem Verfahren haften aber verschiedene Nachteile an, die es für die Bestimmung der minimalen im Blute vorkommenden Brommengen wenig brauchbar erscheinen lassen: Selbst wenn man nur kleine Quantitäten Blut verarbeitet, dauert es sehr lange, bis eine wirklich vollständige Mineralisierung erreicht ist, sogar wenn man gegen Ende des Veraschens einige Zeit kräftig glüht; liegen größere Mengen Blut (etwa 5 bis 10 ccm) vor, wie es bei der Brombestimmung wegen des niedrigen Gehaltes von Blut an Brom notwendigerweise der Fall ist, so gelingt es in der Regel überhaupt nicht, eine „Veraschung" im wahren Sinne des Wortes zu erzielen; denn ein kräftiges Glühen muß ja wegen der Flüchtigkeit der Alkalihalogenide unter allen Umständen vermieden werden. —

[1] Ztschr. physiol. Chem., **214**, 179 (1933).

Ucko[2] hat bezüglich der Veraschung von Blut mit KOH angegeben, sie müsse auf ganz kleiner Flamme (Zündflamme eines Bunsenbrenners) vorgenommen werden, und auch gegen Ende des Prozesses dürfe höchstens der Boden des Tiegels für kurze Zeit bis zur dunklen Rotglut erhitzt werden. Versucht man, sich strikte an diese Vorschrift zu halten, so dauert es eine Reihe von Tagen, bis man eine auch nur einigermaßen annehmbare Veraschung erzielt hat, wenn man von 5 bis 10 ccm Blut ausgegangen ist. Aber auch dann besteht durchaus keine Sicherheit darüber, daß keine Verflüchtigung von Alkalihalogenid eingetreten ist; denn selbst bei größter Vorsicht läßt es sich nicht vermeiden, daß die Masse im Tiegel während der Veraschung stellenweise unter hellem Aufglühen verbrennt.

Es erschien deshalb von großem Interesse, eine Veraschungsmethode zu finden, die sich rasch ausführen läßt und bei der Bromverluste sicher vermieden werden. Ein Weg zur Lösung dieses Problems bietet sich ganz von selbst und scheint ungemein einfach: Man verascht das Blut (analog wie bei der Halogenbestimmung nach Carius) mit Silbernitrat und rauchender Salpetersäure, führt auf irgendeine Weise das gebildete Halogensilber in lösliches Halogenid über und bestimmt dann das Brom nach dem früher angegebenen Verfahren.

Beim Versuch, diesen Weg zu beschreiten, ergaben sich aber bald große Schwierigkeiten. Es gibt zwar eine ganze Reihe von Möglichkeiten, Halogensilber in lösliches Halogenid überzuführen; diese versagen aber ausnahmslos, wenn es sich um sehr kleine Mengen Bromsilber neben viel Chlorsilber handelt. Es würde viel zu weit führen, die zahlreichen fehlgeschlagenen Versuche, Silberhalogenid aufzuschließen, hier anzuführen; auf einige allgemeiner interessierende Beobachtungen sei aber kurz eingegangen.

Löst man frisch gefälltes und abfiltriertes Silberhalogenid (AgCl und AgBr) in Ammoniak und setzt metallisches Zink oder Magnesium zu, so scheidet sich alsbald metallisches Silber ab. Der Prozeß geht aber nie vollkommen zu Ende; auch nicht, wenn man das Reaktionsgemisch tagelang stehenläßt oder in der Wärme ar-

[2] H. Bernhardt und H. Ucko, Biochem. Ztschr., **155**, 174 (1925); **170**, 459 (1926) (zit. nach P. Rona, Praktikum der Physiol. Chemie, Berlin 1929, II. Teil, S. 607); ergänzt durch eine Privatmitteilung Uckos.

beitet. Wohl wird bald ein Stadium erreicht, wo die über dem Zink und dem Silber stehende ammoniakalische Flüssigkeit sich beim Ansäuern nicht mehr trübt; wenn man aber in dieser Lösung eine Brombestimmung vornimmt, so erhält man je nach den Umständen nur 50 bis 80% der Einwaage wieder. Auf den ersten Blick könnte hier die Vermutung naheliegen, daß dieses Manko nicht durch mangelhafte Reduktion bedingt sei, sondern daß infolge der Löslichkeit des Bromsilbers in Wasser bereits beim Abfiltrieren und Auswaschen des Halogensilbers Bromverluste eingetreten seien. Es läßt sich aber rechnerisch leicht zeigen[3], daß Bromsilber in einer gesättigten Chlorsilberlösung (wie sie hier ja immer vorliegt) praktisch völlig unlöslich (etwa 1,6 γ im Liter) ist, von den bei der Fällung zugesetzten überschüssigen Silberionen, durch die die Löslichkeit des Bromsilbers noch viel weiter herabgesetzt wird, ganz abgesehen.

Daß die Fehlresultate nicht etwa dadurch bedingt werden, daß bereits beim Behandeln des gefällten Halogensilbers mit Ammoniak ein Teil des AgBr ungelöst zurückbleibt und dadurch verlorengeht, sondern daß in der Tat der Reduktionsprozeß nicht quantitativ bis zu Ende verläuft, ließ sich eindeutig auf folgende Weise zeigen: Löst man AgCl in Ammoniak, reduziert mit Zink, filtriert ab und setzt nun bekannte Mengen Br' (in Form von NaBr) zu, so lassen sich diese quantitativ wiederfinden. Versetzt man dagegen eine ammoniakalische Chlorsilberlösung mit bekannten Mengen Bromnatrium und reduziert dann mit Zink, so findet man im Filtrat vom Ag + + Zn wiederum nur ungefähr 80% des zugesetzten Broms wieder. — Auch mit anderen Metallen, wie z. B. Mg oder Cu, gelingt es auf keine Weise, eine ammoniakalische Chlor-Bromsilber-Lösung quantitativ zu reduzieren.

Mit anderen Reduktionsmitteln (Hydrazin, Hydroxylamin, Hydrosulfit, Hypophosphit usw.) wurden nur einige orientierende Versuche ausgeführt, weil hier eine andersartige Schwierigkeit vorauszusehen war: Vor der eigentlichen Brombestimmung nach dem früher mitgeteilten Verfahren hätte im Filtrat vom Silber der Überschuß des Reduktionsmittels restlos zerstört werden müssen, weil dieser sonst mit dem Permanganat unter Bildung von Manganosalz rea-

[3] J. EGGERT, Lehrb. d. Physikal. Chemie, 2. Aufl., Leipzig 1929, S. 370.

giert hätte, wodurch die Konzentration an Mangano-Ionen, die ja sehr genau innegehalten werden muß, um einen nicht sicher bekannten Betrag erhöht worden wäre. Es ließ sich aber keine Möglichkeit finden, diesen Überschuß an Reduktionsmitteln zu beseitigen, ohne daß dadurch die nachfolgende Brombestimmung anderweitig störend beeinflußt worden wäre.

Sehr naheliegend und sicheren Erfolg versprechend erschien es, aus der ammoniakalischen Halogensilberlösung das Silber mit Schwefelnatrium als Ag_2S auszufällen, den Überschuß an Na_2S mittels $CuSO_4$ oder durch Schütteln mit Bleisulfat, Bleicarbonat oder Cadmiumcarbonat zu beseitigen und das Filtrat vom Sulfidniederschlag der Brombestimmung zu unterwerfen. Zahlreiche unter den verschiedensten Bedingungen angestellte Versuche erwiesen aber diesen Weg als durchaus ungangbar, weil die frisch gefällten Sulfidniederschläge außerordentlich starke adsorptive Eigenschaften haben. Löst man z. B. die etwa 100 mg Cl und 100 γ Br entsprechenden Mengen Chlor- und Bromsilber in Ammoniak, fällt mit einem möglichst kleinen Überschuß von Na_2S oder H_2S, schüttelt mit Bleicarbonat und filtriert ab, so ist im Filtrat nur ein ganz kleiner Bruchteil des eingewogenen Broms (10 bis 15 γ), unter Umständen sogar überhaupt kein Brom nachweisbar. Bringt man den Niederschlag von Ag_2S, PbS und $PbCO_3$ mit möglichst wenig heißer Salpetersäure in Lösung, so bleiben nahezu immer sichtbare Mengen Halogensilber ungelöst zurück, man mag ihn noch so oft mit Wasser ausgewaschen haben.

Da sich festes Halogensilber rasch mit Zink zu Zinkhalogenid und metallischem Silber umsetzt, so lag es nahe, auf diesem Wege die Überführung des Halogensilbers in lösliches Halogenid zu versuchen. Voraussetzung dafür war, das Halogensilber in dichter, kompakter Form zu gewinnen. Durch Zentrifugieren läßt sich dies nicht erreichen; die Hauptmenge setzt sich zwar sehr gut ab, aber es bleiben doch immer recht merkliche Mengen Halogensilber an den Gefäßwänden haften, die sich der Reaktion mit dem Zink entziehen, beim nachfolgenden Auswaschen mit der Br'-haltigen Flüssigkeit in Berührung kommen und sich nun im Sinne der Gleichung $AgCl + Br' = AgBr + Cl'$ rückwärts umsetzen, weil ja Bromsilber viel schwerer löslich ist als Chlorsilber. — In ganz dichter, kom-

pakter Form kann man Chlor-Bromsilber erhalten, wenn man es durch ein Glasfilterröhrchen, wie es von SCHOTT und Genossen in Jena unter der Bezeichnung 12 G 3 geliefert wird, abfiltriert und beim Auswaschen fest zusammensaugt. Bei geschicktem Arbeiten gelingt es leicht, jegliches sichtbare Haften von Halogensilber an den Wandungen zu vermeiden. Aber auch unter diesen Umständen läßt sich eine restlose Umsetzung des Chlorbromsilbers mit Zink, Magnesium oder Natrium-Amalgam nicht erzielen. Die Reduktion des Bromsilbers erfolgt nur zu etwa 80%; in einer großen Reihe von Versuchen mit Einwaagen von 20 bis 1000 γ Br' wurde dieser Prozentsatz mit auffallender Konstanz wiedergefunden. Es ist mir aber nicht gelungen, den Grund dieser bemerkenswerten Erscheinung zu eruieren. — Größere Mengen Halogensilber werden durch Zink innerhalb weniger Minuten praktisch quantitativ reduziert, wie folgender Versuch beweist:

2,0 ccm einer KCl-Lösung wurden mit 15 ccm 0,1 n-$AgNO_3$ versetzt und nach VOLHARD mit NH_4CNS zurücktitriert; Verbrauch: 5,98 ccm 0,1 n-NH_4CNS, also vom KCl verbraucht 9,02 ccm 0,1 n-$AgNO_3$.

2,0 ccm derselben KCl-Lösung wurden mit 15 ccm 0,1 n-$AgNO_3$ gefällt, das Halogensilber abfiltriert und das Filtrat mit 0,1 n-NH_4CNS titriert. Verbrauch: 6,00 ccm 0,1 n-NH_4CNS. Das AgCl wurde mit Zink reduziert, was etwa 10 Minuten lang dauerte, mit Wasser ausgewaschen, das Filtrat mit 15 ccm 0,1 n-$AgNO_3$ versetzt und mit 0,1 n-NH_4CNS zurücktitriert; Verbrauch: 6,02 ccm 0,1 n-NH_4CNS, also vom Cl' verbraucht 8,98 ccm 0,1 n-$AgNO_3$. — Schließlich wurde der Inhalt des Filterröhrchens (Ag + überschüssiges Zn) mit Salpetersäure gelöst (wobei kein sichtbarer Rückstand blieb) und diese Lösung mit 0,1 n-NH_4CNS titriert. Verbrauch: 9,00 ccm 0,1 n-NH_4CNS.

Allerdings ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Titration nach VOLHARD nicht exakt genug ist, um die Unvollständigkeit der Reduktion von Chlorsilber mit Zink in Erscheinung treten zu lassen. Schon bei MOHR[4] findet sich nämlich (gelegentlich der Besprechung der Silberbestimmung nach GAY-LUSSAC) die Bemerkung, daß jedes durch Reduktion von Chlorsilber erhaltene Silber noch unangegriffenes AgCl enthält, und daß sich dieses aus dem Silber auch durch Behandlung mit Ammoniak nicht entfernen läßt.

Einen ganz quantitativen Aufschluß auch der gegen Zink resistenten letzten Spuren von AgBr und AgCl kann man auf sehr einfache Weise mit Hilfe von Na_2S erreichen: Wenn man das fest zusammengesaugte Halogensilber zunächst mit Zink reduziert, das gebildete Zinkhalogenid durch Auswaschen entfernt und

[4] FRIEDRICH MOHR, Lehrbuch der Chem.-analyt. Titriermethode, 2. Aufl., Braunschweig 1862, S. 356.

nun auf den im Filterröhrchen befindlichen Rückstand von überschüssigem Zink, Silber und Halogensilber einige Minuten lang eine ganz verdünnte (n/200-) Schwefelnatriumlösung einwirken läßt, so setzen sich die vom Zink nicht angegriffenen Reste von AgCl und AgBr glatt zu Schwefelsilber und Alkalihalogenid um. Bei dieser Art des Vorgehens wird so wenig Silbersulfid gebildet, daß keine Adsorptionserscheinungen bemerkbar werden; außerdem ist der Überschuß von Schwefelnatrium, der mit ins Filtrat gelangt, so klein, daß bei der eigentlichen Brombestimmung durch ihn nur eine belanglos kleine Menge Permanganat zu Manganosalz reduziert wird. — (Beleganalysen siehe weiter unten!)

Die Blutveraschung und die Überführung der im Blut enthaltenen Halogene in Halogensilber bot wesentlich geringere Schwierigkeiten. Es ist bekanntlich nicht möglich, Blut im offenen Gefäß mit rauchender Salpetersäure allein zu veraschen. Erhitzt man Blut mit Silbernitrat und rauchender Salpetersäure, so erhält man zwar bald Silberhalogenid und eine in der Hitze klare tiefgelbe Lösung; beim Erkalten scheiden sich aus dieser aber große Mengen eines teils kristallinen, teils flockigen Niederschlags sowie dicke ölige Tropfen ab. (Ein erheblicher Teil des Niederschlags scheint aus Oxalsäure zu bestehen.) Die gegen Salpetersäure resistenten Verbindungen lassen sich aber glatt mit Permanganat mineralisieren. Diese Oxydation wird erheblich beschleunigt, wenn man vor dem Zusatz des Permanganats kräftig mit Schwefelsäure ansäuert.

Im Prinzip deckt sich also mein Vorgehen mit dem KORÁNYI's[5]. Dieser schließt allerdings organisches Material zur Bestimmung der Gesamthalogene (durch Titration nach VOLHARD) in der Weise auf, daß er zunächst mit Salpetersäure bis zur klaren Lösung erhitzt und dann erst Silbernitrat zusetzt und mit Permanganat weiteroxydiert; es ist jedoch nicht einzusehen, weshalb er gerade diese Reihenfolge der Operationen wählt, bei der unter allen Umständen Halogenverluste eintreten müssen. Erhitzt man Blut längere Zeit mit HNO_3 und setzt dann Silbernitrat zu, so erhält man in der Regel höchstens einen ganz geringen Niederschlag, unter Umständen sogar überhaupt keinen — eine Tatsache, die in keiner Weise verwunderlich ist.

Das im vorstehenden geschilderte Vorgehen, dessen Einzelheiten weiter unten dargestellt werden, hat sich bei der Analyse einer größeren Anzahl von Einwaagen und von Blutproben gut bewährt. Leider wurde jedoch dabei eine Beobachtung gemacht, die dazu zwang, die Untersuchungen auf diesem Gebiet vorläufig einzustellen:

Da mir gelegentlich aufgefallen war, daß sich aus dem Filtrat vom Halogensilber, wenn man es einige Tage lang stehen ließ, ein flockiger Niederschlag ab-

[5] KORÁNYI, zit. bei RONA, Praktikum d. Physiol. Chemie, II. Teil, S. 256.

schied, dessen Menge mit der Zeit zunahm, bewahrte ich ein solches Filtrat, das von einem Aufschluß von 10 ccm Blut herrührte, etwa 14 Tage lang auf, um diesen Niederschlag in größerer Menge zu erhalten und womöglich zu identifizieren. Die Flocken gingen nach einigen Tagen in Kristalle über, und nach zwei Wochen hatten sich schätzungsweise etwa 0,2 g weißer, aus feinen Nadeln bestehender Drusen abgeschieden. Überraschenderweise erwiesen sich diese als hochexplosiv: Beim Transport des Gefäßes von einem Tisch auf den anderen erfolgte plötzlich ohne jeden erkennbaren äußeren Anlaß eine schußähnliche Detonation, durch die der Erlenmeyer-Kolben von 500 ccm aus Jenenser Glas in zahllose kleinste Splitter zertrümmert wurde. Die Gewalt der Explosion war so groß, daß die über den Kristallen stehende Flüssigkeit mehrere Meter weit verspritzt wurde und daß sich die Glassplitter fest in den Tisch einbohrten[6].

Die Tatsache, daß in der Literatur nirgends Explosionen bei Blutaufschlüssen nach KORÁNYI erwähnt werden, legt die Annahme nahe, daß nur die Kristalle, die sich erst im Laufe mehrerer Tage abscheiden, explosiv sind. Es dürfte sich aber doch empfehlen, alle Produkte, die durch Einwirkung von Salpetersäure auf Eiweißkörper — insbesondere in Gegenwart von Silbernitrat — zustande kommen, möglichst rasch weiterzuverarbeiten und alle Filtrate zu vernichten, solange sie noch klar sind. Daß bei derartigen Aufschlüssen Substanzen entstehen, deren Lösungen explosiv sind, kann nach allgemeinchemischen Erfahrungen als sehr wenig wahrscheinlich erachtet werden.

Arbeitsvorschriften.

1. Aufschluß des Blutes: Eine abgemessene Menge frischen[7] oder über festem Natriumcitrat aufgefangenen Blutes (etwa 10 ccm) wird in einem hohen Becherglas von 250 ccm Inhalt mit 3 bis 4 ccm 10%iger Silbernitratlösung versetzt und kräftig durchgeschüttelt. Das auf den Zusatz des Silbernitrats hin anfangs sofort koagulierende Blut wird während des Schüttelns rasch breiig dünnflüssig und färbt sich schokoladenbraun. Nun gibt man unter Umschwenken oder Umrühren mit einem Glasstab nach und nach etwa 8 bis 10 ccm rauchende Salpetersäure in Portionen von 2 bis 3 ccm zu und läßt unter gelegentlichem Umrühren etwa 15 Minuten lang ruhig stehen. Nach dieser Zeit erwärmt man unter dauerndem Rühren langsam auf ganz kleiner Flamme. Anfangs steigt dabei der Schaum ziemlich hoch; bald aber entweichen große Blasen von nitrosen Gasen, die den Schaum zerreißen (wenn nötig, kann man dazu durch Zusatz von etwas rauchender Salpetersäure beitragen), und das Schäumen hört nahezu ganz auf.

---

[6] Eine in der Nähe stehende Saugflasche wies nach der Explosion eine Anzahl tiefer paralleler Kratzer auf.

[7] Geronnenes Blut läßt sich unter der Voraussetzung verarbeiten, daß seine Menge etwa 10 ccm beträgt und daß es sich ganz aus dem Auffanggefäß entleeren läßt, so daß man das zur Analyse benutzte Quantum durch Differenzwägung ermitteln kann. Der gummiartige Blutkuchen läßt sich nach dem Versetzen mit Silbernitrat leicht mit einem Glasstab zerkleinern.

Ist dieser Punkt erreicht, so setzt man portionsweise in kurzen Abständen noch etwa 10 bis 15 ccm rauchende Salpetersäure zu und erhitzt unter öfterem Umrühren weiter, bis man eine ziemlich dickflüssige, tiefgelbe Lösung erhält. Diese läßt man etwas abkühlen (wobei sie sich meistens trübt) und versetzt sie mit 15 bis 20 ccm einer Mischung von gleichen Raumteilen Wasser und konzentrierter Schwefelsäure. (Dabei scheidet sich in der Regel ein seidig glänzender Niederschlag ab; namentlich, wenn die Lösung noch ziemlich heiß ist.) — Die weitere Oxydation wird in der Kälte mit kalt gesättigter Permanganatlösung vorgenommen. Die ersten Tropfen Permanganat werden von den noch vorhandenen nitrosen Gasen sehr rasch reduziert; dann tritt unter lebhafter Entbindung von CO_2 (Vorsicht wegen starken Aufbrausens der Flüssigkeit!) Oxydation der organischen Substanzen ein. Wird die Gasentwicklung geringer und verschwindet der auf den Zusatz des Permanganats hin sich abscheidende Braunstein beim Umrühren nicht mehr momentan, so erhitzt man nach und nach nahezu bis zum Sieden und setzt dabei so lange immer neues Permanganat zu, bis der Braunstein auch in der Hitze nur mehr langsam aufgenommen wird. Die Oxydation mit Permanganat geht gegen Ende des Prozesses nur sehr langsam vor sich; setzt man die kalt gesättigte Permanganatlösung in Portionen von etwa 3 ccm zu, so vergehen jedesmal etwa 15 bis 20 Minuten, bis die Flüssigkeit wieder klar wird und man neues Permanganat zugeben kann. Ob sich der Oxydationsvorgang seinem Ende nähert, kann man durch Zusatz von 1 ccm 0.1 n-Permanganat prüfen: man kann die Oxydation als praktisch beendet ansehen, wenn das verdünnte Permanganat auch in der Hitze nur mehr ganz langsam aufgenommen wird und wenn die über dem Halogensilber stehende Flüssigkeit fast farblos geworden ist. Im Verlauf der Oxydation mit Permanganat scheiden sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit kleine Öltröpfchen ab, die sich nach und nach zu größeren vereinigen und beim Erkalten erstarren. Es gelingt nicht, auch diese zu oxydieren; sie scheinen jedoch keine nachweisbaren Mengen von Brom zu enthalten: Da sich bei der Oxydation mit Permanganat kein scharfes Kriterium für die Beendigung des Prozesses angeben läßt, habe ich nämlich wiederholt mehrere Parallelaufschlüsse mit verschiedenen Mengen eines und desselben Blutes angesetzt und die Oxydation bei den einzelnen Proben bald länger, bald kürzer fortgeführt. Trotzdem erhielt ich immer gut untereinander übereinstimmende Werte für den Bromgehalt (vgl. auch weiter unten sub III), obwohl die Menge der fraglichen Fetttropfen dem Augenschein nach — unter Berücksichtigung der verschiedenen Mengen Ausgangsmaterial — durchaus nicht immer die gleiche war. — Jedenfalls erhält man vergleichbare Werte für den Bromgehalt von Blut, auch wenn man auf diese Öltröpfchen keine Rücksicht nimmt.

Nach Beendigung der Oxydation bleiben meistens noch einige gröbere Braunsteinpartikelchen ungelöst zurück; diese entfernt man dadurch, daß man einige Kubikzentimeter rauchende Salpetersäure (oder 0.1 n-Oxalsäure) in der Hitze zusetzt und einige Minuten lang kräftig umrührt. Dann verdünnt man die Flüssigkeit, wenn erforderlich, mit Wasser auf etwa 80 bis 100 ccm und filtriert das Halogensilber heiß an der Pumpe durch ein Filterröhrchen von der obenerwähnten Sorte ab. Meistens geht die Filtration leicht und rasch vonstatten; manchmal

(namentlich dann, wenn man die Oxydation sehr rasch vorgenommen hat) enthält die Flüssigkeit feine schleimige Flöckchen, die sehr große Neigung haben, die Poren des Filters zu verstopfen. In diesem Falle darf man nur ganz schwach saugen und muß dafür sorgen, daß das Filterröhrchen immer mit Flüssigkeit gefüllt bleibt; sobald gegen Ende der Filtration das Halogensilber zu den Flocken kommt, setzen sie sich an dieses an und das Filter wird wieder leicht durchgängig. Das Halogensilber wird auf dem Filter einige Male mit Wasser gewaschen und dann das Wasser nach und nach durch Aceton verdrängt. Das Aceton löst die dem Halogensilber noch anhaftenden Reste von organischen (Fett-) Substanzen leicht auf; es ist aber empfehlenswert, den Halogensilberniederschlag einige Minuten lang mit Aceton stehenzulassen, ohne dabei zu saugen, da gröbere Partikelchen der organischen Substanzen nur langsam in Lösung gehen. — Schließlich ersetzt man das Aceton wieder durch Wasser und saugt den Niederschlag oberflächlich trocken.

2. Aufschluß des Halogensilbers: Nun wird das Filterröhrchen durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen gesteckt und mit diesem auf einen Erlenmeyer-Kolben von 100 ccm Inhalt gesetzt, in dem sich etwa 10 bis 15 Gramm Natriumsulfat ($Na_2SO_4 . 10\,aq$) befinden. Mit einem Stückchen Zink drückt man den Niederschlag etwas zusammen[8], so daß nirgends mehr isolierte Partikelchen sichtbar bleiben; dann legt man das Zink auf den Niederschlag, versetzt mit etwa 1 ccm Wasser und läßt ruhig etwa 10 Minuten lang stehen, bis alles Halogensilber reduziert ist, was man am Aussehen des Niederschlags leicht erkennen kann. Das entstehende Silber ist anfangs tiefschwarz gefärbt, geht aber in der Regel oberflächlich in eine graugelbe Form über. Diese ist aber kaum mit unreduziertem Halogensilber zu verwechseln. — Nach Beendigung der Reduktion wäscht man zunächst mit Wasser mehrmals durch, um das gebildete Zinkhalogenid in den Erlenmeyer-Kolben zu bringen. Dazu schließt man an die Saugpumpe ein Glasrohr an, das auf die zweite Bohrung des Gummistopfens paßt, und setzt dieses immer nur lose mit der Hand auf die Bohrung des Stopfens auf, so daß man das Saugen in jedem Augenblick unterbrechen kann. Auf diese Weise kann man es leicht erreichen, daß gar keine Flüssigkeit innerhalb des Kolbens an den Wänden verspritzt wird. — Nach dreimaligem Auswaschen des Silbers mit Wasser zerdrückt man es mit einem spitzen Glasstab, wäscht es einmal mit etwas Wasser, dem man einen Tropfen verdünnte Schwefelsäure zugesetzt hat, aus und entfernt dann die überschüssige Säure wieder durch mehrmaliges Auswaschen mit ganz wenig Wasser. Nun füllt man das Filterröhrchen mit ungefähr n/200-Natriumsulfidlösung[9] (30 mg $Na_2S . 9\,H_2O$, in 50 ccm Wasser gelöst) voll und läßt es etwa 5 Minuten lang damit stehen. Dann bringt man diese Lösung durch langsames Saugen ebenfalls in den Erlenmeyer-Kolben

[8] Hierzu eignen sich besonders gut die oft anzutreffenden reißnagelartig gestalteten Zinkgranalien, denen von der Fabrikation her ein kleiner Fortsatz anhaftet, an dem man sie mit einer Pinzette fassen kann.

[9] Die Na_2S-Lösung ist so wenig haltbar, daß sie jeden Tag frisch hergestellt werden muß.

und wäscht mehrmals mit etwas Wasser nach. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, den Niederschlag nun nochmals mit einem feinen Glasstab zu zerdrücken und die Behandlung mit etwas angesäuertem Wasser und mit Schwefelnatrium zu wiederholen. Man muß aber sorgfältig darauf achten, daß man insgesamt nicht mehr als 25 ccm Flüssigkeit erhält[10]; dies läßt sich auch sehr leicht erreichen, denn die Filterröhrchen fassen nur etwa 2 ccm.

Nach Beendigung des Auswaschens entfernt man das Filterröhrchen von dem Kolben, spült dessen Wände, wenn erforderlich, mit einigen Tropfen Wasser ab, wischt sie mit etwas Filtrierpapier gut trocken und gibt zu der Flüssigkeit im Kolben 3,5 ccm Schwefelsäure von 20% (11 ccm konzentrierte Schwefelsäure mit 90 ccm Wasser verdünnt), 2,5 ccm 25%ige Phosphorsäure (d = 1,15) und 1,7 bis 2 ccm einer 0,5%igen $MnSO_4$- (= 0,74% $MnSO_4 . 4 H_2O$) Lösung. Nun setzt man tropfenweise unter Umschwenken 0,1 n-$KMnO_4$-Lösung zu, bis die Rotfärbung eben bestehen bleibt (in der Regel etwa 2 bis 3 Tropfen), führt einen Schlauch bis dicht über die Oberfläche der Flüssigkeit in den Kolben ein und saugt dann etwa eine Minute lang lebhaft Luft durch den Kolben, um allen noch vorhandenen Schwefelwasserstoff zu entfernen. — Mit der so erhaltenen Lösung kann man die früher[1] beschriebene Brombestimmung ohne weiteres vornehmen.

Ergebnisse.

Zur Prüfung des Halogensilberaufschlusses wurden jeweils 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung mit bekannten Mengen Bromnatrium versetzt, in salpetersaurer Lösung mit Silbernitrat gefällt, das Halogensilber abfiltriert und wie geschildert weiterverarbeitet.

Ergebnisse:

Gegeben:	186	58	93	75	55	102	955	100	199	640 γ Br′
Gefunden:	178	60	86	78	56	106	945	97	195	615 γ Br′

Mit Blut[11] wurden folgende orientierende Versuche vorgenommen.

1. Progressive Paralyse: 3 Proben zu je 5 ccm Blut. Probe A direkt aufgeschlossen. Proben B und C mit je 50 γ Br′ versetzt. Ergebnis: Probe A: 17 γ, Probe B: 70 γ, Probe C: 74 γ Br′.

---

[10] Deshalb füllt man das Filterröhrchen beim Auswaschen nicht etwa jedesmal mit Wasser voll, sondern man wendet immer nur etwa 1 ccm an und läßt diese kleine Menge aus einer Pipette an den Wandungen des Filterröhrchens herabfließen, um auch diese abzuspülen.

[11] Das Blut stammte von Patienten her, die schon mindestens fünf bis sechs Wochen in der Klinik waren und die sicher keinerlei brom- (oder jod-) haltige Medikamente bekommen hatten.

Aus diesen Zahlen ergibt sich ein mittlerer Gehalt des Blutes an Brom von 0,4 mg%.

2. Schizophrenie: 2 Proben: A: 8,7 g, B: 7,5 g (geronnenes Blut).

Ergebnis: A: 105 γ, B: 98 γ Br′.
Also Gehalt des Blutes an Brom: A: 1,2 mg%, B: 1.3 mg%.

3. Asthma, Arteriosklerose: 1 Probe von 9 ccm.

Ergebnis: 56 γ Br′.
Also Gehalt des Blutes an Brom: 0,6 mg%.

Herr Dr. SCHEIDERER hatte die Freundlichkeit, in 2,5 ccm desselben Blutes, die unabhängig aufgeschlossen worden waren, nach einem noch unveröffentlichten, außerordentlich empfindlichen kolorimetrischen Verfahren, das Herr Prof. F. L. HAHN angegeben hat, ebenfalls eine Brombestimmung vorzunehmen. Diese ergab 14 γ Br′ in 2,5 ccm Blut oder 0,56 mg%.

4. Progressive Paralyse: 1 Probe von 10 ccm.

Ergebnis: 50 γ Br′.
Also Gehalt des Blutes an Brom: 0,5 mg%.

In 5 ccm desselben Blutes, die unabhängig aufgeschlossen worden waren, fand Herr Dr. SCHEIDERER 18 γ Br′, entsprechend einem Bromgehalt von 0,35 mg%.

5. Psychopathie: Probe A: 10 ccm, Probe B: 6,5 ccm Blut. Zu Probe B wurden 65 γ Br′ vor dem Aufschluß zugesetzt.

Ergebnis: A: 95 γ Br′, B: 121 γ Br′.
Also Gehalt des Blutes an Brom: A: 0,95 mg%, B: 0,86 mg%.

Diese Zahlen zeigen, daß Parallelbestimmungen nach dem beschriebenen Verfahren bei Anwendung von 10 ccm Blut bis auf etwa 0,1 mg% übereinstimmen — eine Genauigkeit, die für klinische Zwecke aller Voraussicht nach hinreichend ist.

Anmerkung bei der Korrektur: Die ausführliche Abhandlung von A. STOLL und B. BRENKEN (Biochem. Ztschr., **268** [1934]) ist mir leider erst während der Drucklegung dieser Arbeit zu Gesicht gekommen. Herr Prof. STOLL

hatte die Freundlichkeit, mir brieflich noch einige ergänzende Angaben über die Veraschung im Nickeltiegel zu machen; danach kann diese in 2 bis 2½ Stunden erledigt sein, wenn man K_2CO_3 anstatt KOH anwendet und die in der zitierten Arbeit angegebenen Bedingungen genau einhält. Ich hatte bisher noch keine Gelegenheit, eine Brombestimmung nach STOLL und BRENKEN vorzunehmen, möchte aber nicht verfehlen, auch an dieser Stelle auf diese Methode hinzuweisen, die den Vorzug großer Einfachheit und Bequemlichkeit zu haben scheint.

HARTNER.

Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers.

Von

Carl Urbach.

Aus dem Physiologischen Institut der Deutschen Universität in Prag.

(Eingelangt am 9. April 1934.)

XII. Mitteilung.

Quantitative Bestimmung des Eisens.

Die meisten kolorimetrischen Methoden zur Bestimmung des Eisens beruhen auf der Rhodaneisenreaktion. Es ist aber in der Literatur des öftern erwähnt worden, daß diese Methoden bei Anwesenheit verschiedener Stoffe keine genauen Werte zeitigen. So führt die Rhodaneisenreaktion z. B. schon bei größerem Salzgehalt des zu untersuchenden Wassers zu unbrauchbaren Resultaten. Auch wird durch die Extraktion mit Äther das präzise Arbeiten erschwert. Zudem ist die hergestellte Farblösung sowie die zur Färbung notwendige Ammoniumrhodanidlösung von verschiedenen Faktoren abhängig und deshalb nur kurze Zeit haltbar. Dies zwingt zu schnellerem Arbeiten, was gerade bei Serienbestimmungen weitere Fehlermöglichkeiten bedingen kann.

Aus diesem Grunde wurden andere kolorimetrische Methoden erprobt und die einfache Methode von L. N. Lapin und W. E. Kill[1], welche auf der Methode von L. Lorber[2] (Reaktion mit Sulfosalicylsäure) beruht, vorgezogen. So ist es möglich, mit denselben Reagenzien sowohl den Ferri- als auch den Gesamteisengehalt

[1] Ztschr. Hyg., **112**, 719 (1931).

[2] Biochem. Ztschr., **181**, 391 (1927).

zu bestimmen. Der Gehalt an Ferrosalzen läßt sich dann aus der Differenz des Gesamteisengehaltes und Ferrisalzgehaltes errechnen.

Die Sulfosalicylsäure gibt nämlich mit Ferrisalzen bei saurer Reaktion eine rosarote Farbe, welche durch Ammoniak in eine intensiv gelbe übergeht; Ferrosalze dagegen reagieren in saurer Lösung mit Sulfosalicylsäure nicht, während sie in alkalischer Lösung dieselbe Gelbfärbung zeigen.

Die Vorschrift von LAPIN und KILL konnte nach einigen kleinen Abänderungen ohne weiteres auf die stufenphotometrische Methodik übertragen werden.

Zwecks Aufstellung der typischen Farbkurve und Kontrolle der Gültigkeit des LAMBERT-BEER'schen Gesetzes wurde eine Eisenstandardlösung verwendet, die folgendermaßen hergestellt wird:

0,7023 $FeSO_4(NH_4)_2SO_4 + 6\,H_2O$ (Merck, Präparat pro analysi) werden in etwa 200 ccm destilliertem, eisenfreiem Wasser gelöst, mit 20 ccm Schwefelsäure (1:3) versetzt und mit einer n 10 $KMnO_4$-Lösung in der Kälte bis zur Rosafärbung titriert. Durch diesen Vorgang wird das Eisen zum dreiwertigen oxydiert und gleichzeitig auch die Kontrolle auf Reinheit des Präparates durchgeführt. Die Lösung wird nun quantitativ in einen 1000-ccm-Meßkolben gebracht und bis zur Marke mit destilliertem, eisenfreiem Wasser aufgefüllt. 1 ccm dieser Lösung entspricht dann 0,1 mg Eisen.

Von zwei Lösungen, die je 0,25 mg Eisen in 100 ccm enthielten, wurde die eine nur mit 2 ccm 20%iger Sulfosalicylsäure und die andere noch mit 2 ccm 2 n-Ammonchloridlösung und 2 ccm 10%igem Ammoniak versetzt, dann auf ein Volumen von 110 ccm gebracht, gemischt und unter Verwendung sämtlicher S-Filter gegen Wasser photometriert. Die den S-Filtern entsprechenden logk-Werte sind in den typischen Farbkurven in den Abb. 1 und 2 wiedergegeben. Diesen kann entnommen werden, daß bei saurer Reaktion (rosa gefärbte Lösung) die Filter S 50[3] und S 53, bei ammoniakalischer Reaktion (gelb gefärbte Lösung) das Filter S 43 maximale Absorption zeigen und deshalb meßtechnisch vorzuziehen sind.

Dann wurden zwecks Kontrolle des BEER'schen Gesetzes Lösungen von verschiedenem Eisengehalt wie oben gefärbt und bei wech-

[3] Aus physiologischen Gründen sei das Filter S 50 hier vorgezogen und empfohlen.

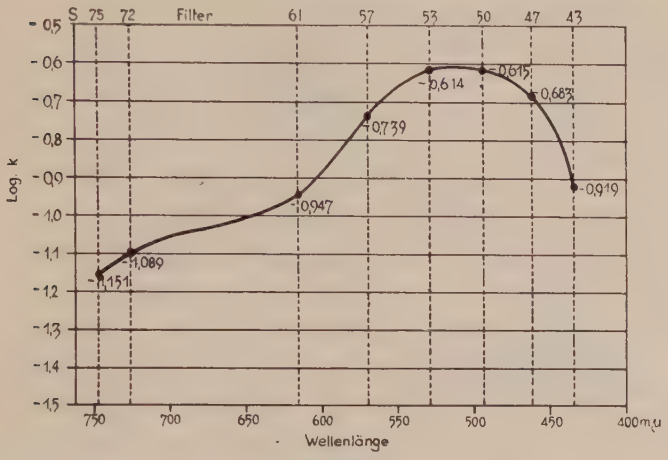


Abbildung 1.

Typische Farbkurve einer bei saurer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbten Eisen(3)Ammoniumsulfatlösung, die 0,25 mg Eisen in 110 ccm enthält.

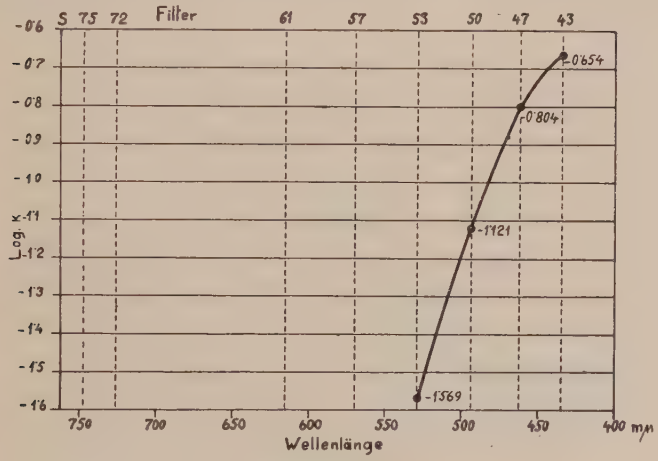


Abbildung 2.

Typische Farbkurve einer bei ammoniakalischer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbten Eisen(3)Ammoniumsulfatlösung, die 0,25 mg Eisen in 110 ccm enthält.

selnden Schichtdicken photometriert. Die den Konzentrationen entsprechenden Extinktionswerte (Mittelwerte mehrerer Messungen) sind in Eichkurven eingetragen, die für die gelb gefärbten Eisenlösungen in den Abb. 3, 4, 5 und für die rosarot gefärbten Ferri-

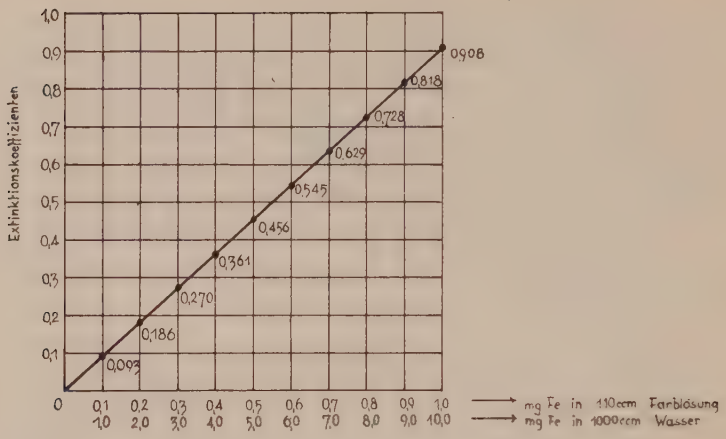


Abbildung 3.

Eichkurve der Extinktionskoeffizienten für bei ammoniakalischer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbte Eisen(3)Ammoniumsulfatlösungen, die wechselnde Mengen (von 0 bis 1 mg) Eisen in 110 ccm enthalten.

Gemessen gegen Wasser. Filter S 43.

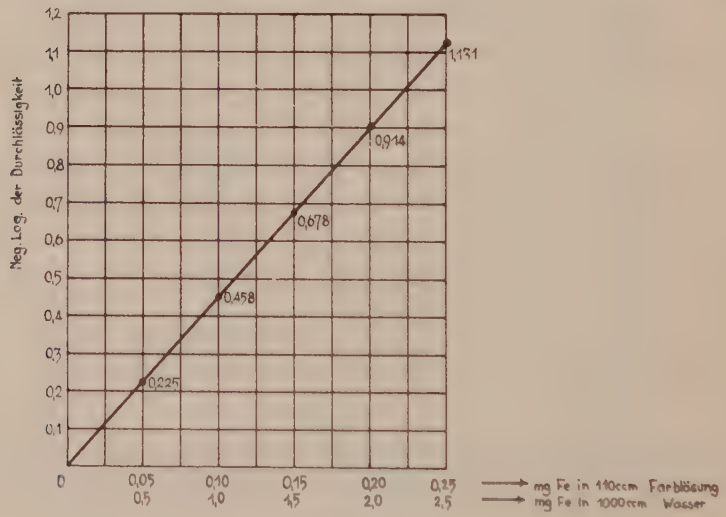


Abbildung 4.

Eichkurve der negativen Logarithmen der Durchlässigkeit für bei ammoniakalischer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbte Eisen(3)Ammoniumsulfatlösungen, die wechselnde Mengen (von 0 bis 0,25 mg) Eisen in 110 ccm enthalten.

Gemessen gegen Wasser. Filter S 43. Schichtdicke 50 mm.

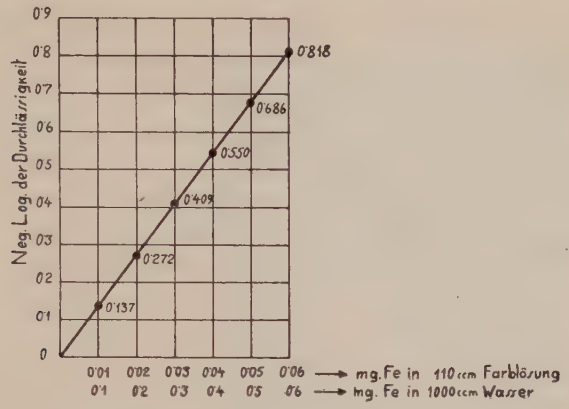


Abbildung 5.

Eichkurve der negativen Logarithmen der Durchlässigkeit für bei ammoniakalischer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbte Eisen(3)Ammoniumsulfatlösungen, die wechselnde Mengen (von 0 bis 0,06 mg) Eisen in 110 ccm enthalten.

Gemessen gegen Wasser. Filter S 43. Schichtdicke 150 mm.

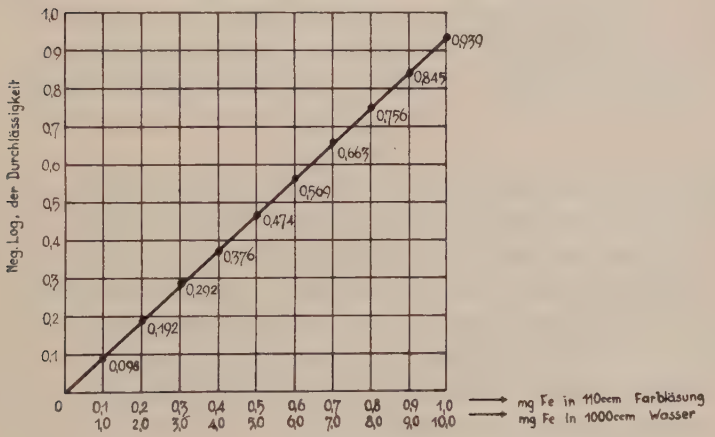


Abbildung 6.

Eichkurve der negativen Logarithmen der Durchlässigkeit für bei saurer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbte Eisen(3)Ammoniumsulfatlösungen, die wechselnde Mengen (von 0 bis 1 mg) Eisen in 110 ccm enthalten.

Gemessen gegen Wasser. Filter S 50. Schichtdicke 30 mm.

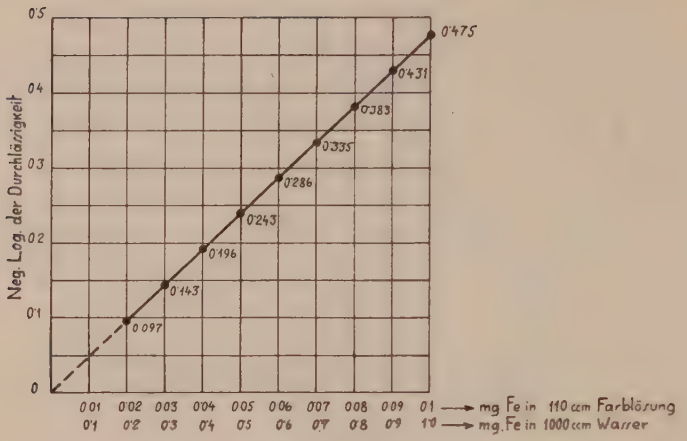


Abbildung 7.

Eichkurve der negativen Logarithmen der Durchlässigkeit für bei saurer Reaktion mit Sulfosalicylsäure gefärbte Eisen(3)Ammoniumsulfatlösungen, die wechselnde Mengen (von 0 bis 0,1 mg) Eisen in 110 ccm enthalten. Gemessen gegen Wasser. Filter S 50. Schichtdicke 150 mm.

ionenlösungen in den Abb. 6 und 7 wiedergegeben sind. Diese seien nur zur Bestätigung der Gültigkeit des BEER'schen Gesetzes angeführt. Die den verschiedenen Konzentrationen entsprechenden Extinktionskoeffizienten wurden dann auf eine Einheit der Konzentration berechnet und deren Mittelwert festgestellt, welcher für die Berechnung der weiter unten angeführten Tabellen verwendet wurde.

Hinsichtlich der Haltbarkeit zeigen die gefärbten Lösungen auch nach vier Stunden keine Änderung der Farbintensität. Es empfiehlt sich aber, die Lösungen nicht dem direkten Sonnenlichte auszusetzen.

Bereits LAPIN und KILL weisen auf die Abhängigkeit der Reaktion von der Wasserstoffionenkonzentration hin. Nun ist aber bei vorliegender Arbeitsvorschrift ein genaues Einstellen auf ein bestimmtes p_H nicht notwendig. Die Farblösungen zeigen gewöhnlich bei der Gesamteisenbestimmung einen p_H-Wert zwischen 9.5 und 10; ein Überschuß an Ammoniak verändert die Farbintensität der Lösungen nicht. Die Eisenbestimmungen in saurer Lösung werden gewöhnlich bei einem p_H-Wert von etwa 1,4 bis 1,5 durchgeführt. Auch hier hat ein Überschuß an Säure (0,5 bis 1,0 ccm 2 n-HCl) keinen Einfluß auf die Farbintensität.

Ferroeisen gibt mit Sulfosalicylsäure in saurer Lösung keine Rotfärbung. So wurden von einer Standardlösung, die 0,7023 g MOHR'sches Salz und etwa 10 ccm verdünnter Säure in 1 Liter enthielt (1 ccm 0,1 mg $Fe^{\cdot\cdot}$), verschiedene Mengen genommen und nach unten gegebener Vorschrift gefärbt. 2 mg $Fe^{\cdot\cdot}$ in 110 ccm Farblösung ergeben noch keine Färbung. Was die Empfindlichkeit anbetrifft, lassen sich in alkalischer Lösung noch 0,01 mg Eisen, in saurer nur 0,02 mg in 110 ccm bestimmen.

Die oben genannten Autoren haben auch den Einfluß verschiedener Stoffe auf den Verlauf der Reaktion studiert und haben festgestellt, daß die in natürlichen Wässern vorkommenden Ionen die Farbintensität nicht beeinflussen. Nur Mangansalze stören, wenn sie in größeren Mengen vorhanden sind, da sie mit Ammoniak einen braunen Niederschlag geben und die Farbe verstärken. In saurer Lösung übt die Anwesenheit von Mn keinen Einfluß auf die Intensität der Farbe aus. Dies ist aus der weiter angeführten Tabelle zu ersehen.

Tabelle I.

Versuchslösung (pro Liter)	Gefunden pro Liter
5 mg Fe + 10 mg Mn	4,97 mg Fe
3 „ „ + 10 „ „	3,02 „ „
7 „ „ + 250 „ „	6,94 „ „
0,3 „ „ + 10 „ „	0,32 „ „

Bei Anwesenheit von großen Mn-Mengen wird es sich deshalb empfehlen, eine Oxydation durch $KMnO_4$ des etwa vorhandenen Ferroeisens vorzunehmen und die Bestimmung des Gesamteisens in saurer Lösung durchzuführen. Durch diesen Vorgang werden auch gleichzeitig die im Wasser etwa vorhandenen Nitrite, bezw. organischen Stoffe, deren Anwesenheit eventuell einen störenden Einfluß auf die Farbintensität haben könnte, unschädlich gemacht. Unsere Versuche zeigen nämlich, daß größere Mengen von organischen Säuren, wie Wein-, Oxal- und Zitronensäure, die Farbintensität der mit Sulfosalicylsäure gefärbten Eisenlösungen abschwächen, und zwar um etwa 20 bis 30%.

Folgendermaßen geht man bei der quantitativen Bestimmung des Eisens im Wasser vor:

Erforderliche Reagenzien:

1. 2 n-Salzsäure.
2. 2 n-Ammoniumchloridlösung.
3. 20%ige Sulfosalicylsäurelösung (Merck, pro analysi).
4. 10%ige Ammoniaklösung.
5. Kongorotpapier.

Die Reagenzien müssen absolut eisenfrei sein.

Die Bestimmung des Gesamteisens.

In einen Meßkolben mit Marken bei 100 und 110 ccm werden 100 ccm des auf Eisen zu prüfenden Wassers gebracht und 2 n-Salzsäure tropfenweise zugesetzt, bis sich Kongorotpapier blau färbt. Dann gibt man 2 ccm der 2 n-Ammoniumchloridlösung, 2 ccm der 20%igen Sulfosalicylsäure und 2 ccm der 10%igen Ammoniaklösung zu, füllt bis 110 ccm auf, mischt gut durch und photometriert nach etwa 5 Minuten die gelbe Lösung unter Vorschaltung des Filters S 43. Je nach dem vermuteten Eisengehalt wird bei einer Schichtdicke von 10, bezw. 50 mm oder bei kleinerem Gehalt mit Mikroabsorptionsröhren von 150 mm Schichtlänge gegen optisch reines Wasser gemessen. Bei gefärbten Wässern muß zwecks Kompensation der Eigenfarbe das zu untersuchende Wasser (100 ccm auf 110 verdünnt) in der anderen Küvette eingeschaltet werden. Dem ermittelten Ablesewert (D) entspricht in den Tabellen III, IV und V der Gehalt an Gesamteisen in mg pro 1000 ccm Wasser (A). Enthält das Wasser mehr als 10 mg Eisen pro Liter, so werden nur 50 ccm verwendet, mit destilliertem Wasser auf 100 aufgefüllt, weiter wie oben vorgegangen und das Resultat dann mit 2 multipliziert.

Die Bestimmung des Ferrieisens.

100 ccm Wasser säuert man mit 2 n-Salzsäure, bis Kongorotpapier gebläut wird, fügt noch 0,5 ccm der Säure hinzu, versetzt mit 2 ccm 20%iger Sulfosalicylsäure, füllt auf 110 ccm mit destilliertem Wasser auf, mischt durch und photometriert nach 5 Minuten. Es wird gegen Wasser mit dem Filter S 50 und je nach dem vermuteten Eisengehalt mit einer Schichtdicke von 30 mm, bezw.

mit Mikroabsorptionsröhren von 150 mm Schichtlänge gemessen. Auch hier wird den Tabellen VI und VII der dem Trommelablesewert entsprechende Gehalt an dreiwertigem Eisen in mg pro Liter entnommen. Die Differenz zwischen den für Gesamteisen und dreiwertigem Eisen ermittelten Werten ergibt den Gehalt von zweiwertigem Eisen in mg pro Liter Wasser.

Bei Anwesenheit von größeren Mengen Mangan, Nitriten, organischen Stoffen wird nur das Gesamteisen in saurer Lösung bestimmt, und zwar folgendermaßen:

100 ccm Wasser werden mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 2) versetzt, 1 ccm n/10 $KMnO_4$ zugefügt und gekocht. Tritt innerhalb 5 Minuten eine Entfärbung des $KMnO_4$ ein, so ist noch weiter zu je 0,5 ccm zuzusetzen, bis eine Rosafärbung bestehen bleibt. Es wird unter gelindem Sieden 15 Minuten lang erhitzt, dann, um das überschüssige Permanganat zu zerstören, einige Tropfen H_2O_2 zugefügt und aufgekocht. Die Säure wird mit Natronlauge abgestumpft, und zwar solange, bis Kongorotpapier noch gebläut

Tabelle II.

Nr.	Art der Probe	mg Fe in 100 ccm	Zugesetzt mg		Gesamteisen vorhanden	Gefunden mg		
			Fe (II)	Fe (III)		Ges. Fe	Fe (III)	Fe (II)
1	Destilliertes Wasser	—	0,500	0,500	1,000	0,992	0,498	0,494
2	Destilliertes Wasser	—	0,800	0,200	1,000	1,015	0,214	0,801
3	Destilliertes Wasser	—	0,200	0,030	0,230	0,237	0,207	0,030
4	Destilliertes Wasser	—	0,010	0,010	0,020	0,019	—	—
5	Destilliertes Wasser	—	0,030	0,010	0,040	0,042	—	—
6	Destilliertes Wasser	—	0,080	0,040	0,120	0,124	0,044	0,080
7	Leitungswasser	0,023[4]	0,110	0,123	0,256	0,261	0,126	0,135
8	Leitungswasser	0,023[4]	0,200	0,100	0,323	0,322	0,100	0,222
9	Leitungswasser	0,023[4]	0,050	0,200	0,273	0,274	0,203	0,071
10	Destilliertes Wasser[5]	—	0,200	0,200	0,400	0,400	0,202	0,198
11	Destilliertes Wasser	—	0,300	0,250	0,550	0,557	0,256	0,301
12	Brunnenwasser[6]	—	0,100	0,050	0,150	0,152	0,049	0,103

[4] Das Eisen ist als zweiwertiges vorhanden.

[5] Zugesetzt 0,5 g KNO_3, 0,5 g K_2HPO_4, 2 g NaCl.

[6] Das Wasser hat eine Härte von etwa 55 D. H., wobei etwa 12 auf die Magnesiumhärte entfallen.

Tabelle III.

Gefärbt in ammoniakalischer Lösung.

Filter S 43. Schichtdicke 10 mm.

D = der abgelesene Trommelwert.

A = Eisen in mg pro 1000 ccm Wasser.

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
2,0	18,72	5,7	13,72	9,4	11,33	13,1	9,73	16.8	8,54
2,1	18,50	5,8	13,64	9.5	11,27	13.2	9,70	16.9	8,51
2,2	18,28	5,9	13,55	9,6	11,23	13,3	9,66	17.0	8,49
2,3	18,06	6,0	13,48	9,7	11,17	13,4	9,63	17,1	8,46
2,4	17,86	6.1	13,40	9.8	11,12	13.5	9,59	17.2	8.43
2,5	17,67	6,2	13,32	9.9	11,07	13.6	9,56	17.3	8.40
2,6	17,48	6.3	13,24	10,0	11,03	13.7	9,52	17.4	8.37
2,7	17,30	6,4	13,16	10.1	10.98	13.8	9,48	17.5	8.35
2,8	17,12	6,5	13,09	10.2	10.93	13.9	9,45	17.6	8.32
2,9	16,96	6,6	13,01	10.3	10,89	14.0	9,42	17.7	8.29
3,0	16,79	6,7	12,95	10.4	10,84	14.1	9,38	17.8	8,26
3,1	16,64	6.8	12,87	10.5	10,79	14.2	9.35	17.9	8,24
3,2	16,48	6.9	12,80	10.6	10.75	14.3	9.32	18.0	8.21
3.3	16,33	7.0	12.74	10.7	10,70	14.4	9.28	18.1	8.19
3,4	16,19	7,1	12,67	10.8	10,66	14.5	9.25	18.2	8.16
3,5	16,06	7,2	12,61	10,9	10,61	14,6	9,21	18,3	8,13
3,6	15,92	7.3	12,54	11.0	10,57	14.7	9.18	18.4	8.11
3,7	15,79	7,4	12,47	11,1	10,53	14,8	9,15	18,5	8,08
3,8	15,66	7.5	12,40	11.2	10,48	14.9	9.12	18.6	8.06
3.9	15,54	7.6	12,34	11.3	10.44	15.0	9.09	18.7	8.03
4.0	15,41	7.7	12.27	11.4	10,40	15.1	9.05	18.8	8.00
4,1	15,30	7.8	12,22	11.5	10.36	15.2	9.02	18.9	7.98
4,2	15,18	7.9	12,15	11.6	10,32	15,3	8,99	19,0	7,95
4.3	15,06	8.0	12,10	11.7	10,28	15.4	8,96	19.1	7,93
4.4	14,95	8.1	12,03	11.8	10,24	15.5	8.93	19.2	7,90
4.5	14,85	8.2	11,97	11.9	10.19	15,6	8.90	19.3	7.88
4.6	14,74	8.3	11.92	12.0	10.15	15.7	8.87	19.4	7.85
4.7	14.64	8.4	11.86	12.1	10.11	15.8	8.84	19.5	7.83
4,8	14,54	8.5	11.81	12.2	10.07	15.9	8.81	19,6	7.80
4.9	14.45	8.6	11.74	12.3	10.03	16.0	8.78	19.7	7.78
5.0	14.35	8.7	11.69	12.4	10.00	16.1	8.75	19.8	7.76
5.1	14,25	8.8	11.64	12.5	9.96	16.2	8.72	19.9	7.73
5.2	14.16	8.9	11.59	12.6	9.92	16.3	8.69	20.0	7.71
5.3	14.07	9.0	11.53	12.7	9.88	16.4	8.66	20.2	7.66
5.4	13.98	9.1	11.48	12.8	9.84	16.5	8.63	20.4	7,61
5.5	13,89	9,2	11,42	12,9	9,81	16,6	8,60	20,6	7,57
5,6	13.81	9.3	11.38	13.0	9.77	16.7	8,57	20,8	7,52

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
21,0	7,47	28,2	6,06	35,4	4,97	46,5	3,67	69,0	1,78
21,2	7,43	28,4	6,03	35,6	4,95	47,0	3,62	70,0	1,71
21,4	7,38	28,6	5,99	35,8	4,92	47,5	3,57	71,0	1,64
21,6	7,33	28,8	5,96	36,0	4,89	48,0	3,51	72,0	1,57
21,8	7,29	29,0	5,93	36,2	4,87	48,5	3,47	73,0	1,51
22,0	7,25	29,2	5,90	36,4	4,84	49,0	3,42	74,0	1,44
22,2	7,21	29,4	5,86	36,6	4,81	49,5	3,37	75,0	1,38
22,4	7,16	29,6	5,83	36,8	4,79	50,0	3,32	76,0	1,31
22,6	7,12	29,8	5,80	37,0	4,76	50,5	3,27	77,0	1,25
22,8	7,08	30,0	5,77	37,2	4,74	51,0	3,22	78,0	1,19
23,0	7,04	30,2	5,73	37,4	4,71	51,5	3,18	79,0	1,13
23,2	7,00	30,4	5,70	37,6	4,68	52,0	3,13	80,0	1,07
23,4	6,96	30,6	5,67	37,8	4,66	52,5	3,09	81,0	1,01
23,6	6,92	30,8	5,64	38,0	4,63	53,0	3,04	82,0	0,95
23,8	6,87	31,0	5,61	38,2	4,61	53,5	3,00	83,0	0,89
24,0	6,83	31,2	5,58	38,4	4,58	54,0	2,95	84,0	0,83
24,2	6,80	31,4	5,55	38,6	4,56	54,5	2,91	85,0	0,78
24,4	6,76	31,6	5,52	38,8	4,53	55,0	2,86	86,0	0,72
24,6	6,72	31,8	5,49	39,0	4,51	55,5	2,82	87,0	0,67
24,8	6,68	32,0	5,46	39,2	4,49	56,0	2,78	88,0	0,61
25,0	6,64	32,2	5,43	39,4	4,46	56,5	2,73	89,0	0,56
25,2	6,60	32,4	5,40	39,6	4,44	57,0	2,69	90,0	0,50
25,4	6,56	32,6	5,37	39,8	4,41	57,5	2,65	91,0	0,45
25,6	6,53	32,8	5,34	40,0	4,39	58,0	2,61	92,0	0,40
25,8	6,49	33,0	5,31	40,5	4,33	58,5	2,57	93,0	0,35
26,0	6,45	33,2	5,28	41,0	4,27	59,0	2,53	94,0	0,30
26,2	6,41	33,4	5,25	41,5	4,21	59,5	2,49	95,0	0,25
26,4	6,38	33,6	5,22	42,0	4,16	60,0	2,45	96,0	0,20
26,6	6,34	33,8	5,20	42,5	4,10	61,0	2,37	97,0	0,15
26,8	6,31	34,0	5,17	43,0	4,04	62,0	2,29	98,0	0,10
27,0	6,27	34,2	5,14	43,5	3,99	63,0	2,21	99,0	0,05
27,2	6,24	34,4	5,11	44,0	3,93	64,0	2,14	100,0	0,00
27,4	6,20	34,6	5,08	44,5	3,88	65,0	2,06		
27,6	6,17	34,8	5,05	45,0	3,82	66,0	1,99		
27,8	6,13	35,0	5,03	45,5	3,77	67,0	1,92		
28,0	6,10	35,2	5,00	46,0	3,72	68,0	1,85		

Tabelle IV.

Gefärbt in ammoniakalischer Lösung.

Filter S 43. Schichtdicke 50 mm.

D = der abgelesene Trommelwert.

A = Eisen in mg pro 1000 ccm Wasser.

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
2,0	3,74	5,7	2,74	9,4	2,26	13,1	1,94	16,8	1,71
2,1	3,70	5,8	2,73	9,5	2,25	13,2	1,94	16,9	1,70
2,2	3,66	5,9	2,71	9,6	2,24	13,3	1,93	17,0	1,70
2,3	3,61	6,0	2,69	9,7	2,23	13,4	1,92	17,1	1,69
2,4	3,57	6,1	2,68	9,8	2,22	13,5	1,92	17,2	1,68
2,5	3,53	6,2	2,66	9,9	2,21	13,6	1,91	17,3	1,68
2,6	3,49	6,3	2,65	10,0	2,20	13,7	1,90	17,4	1,67
2,7	3,46	6,4	2,63	10,1	2,19	13,8	1,89	17,5	1,67
2,8	3,42	6,5	2,62	10,2	2,18	13,9	1,89	17,6	1,66
2,9	3,39	6,6	2,60	10,3	2,18	14,0	1,88	17,7	1,66
3,0	3,36	6,7	2,59	10,4	2,17	14,1	1,87	17,8	1,65
3,1	3,33	6,8	2,57	10,5	2,16	14,2	1,87	17,9	1,65
3,2	3,29	6,9	2,56	10,6	2,15	14,3	1,86	18,0	1,64
3,3	3,27	7,0	2,55	10,7	2,14	14,4	1,86	18,1	1,64
3,4	3,24	7,1	2,53	10,8	2,13	14,5	1,85	18,2	1,63
3,5	3,21	7,2	2,52	10,9	2,12	14,6	1,84	18,3	1,63
3,6	3,18	7,3	2,51	11,0	2,11	14,7	1,84	18,4	1,62
3,7	3,16	7,4	2,49	11,1	2,11	14,8	1,83	18,5	1,62
3,8	3,13	7,5	2,48	11,2	2,09	14,9	1,82	18,6	1,61
3,9	3,11	7,6	2,47	11,3	2,09	15,0	1,82	18,7	1,61
4,0	3,08	7,7	2,45	11,4	2,08	15,1	1,81	18,8	1,60
4,1	3,06	7,8	2,44	11,5	2,07	15,2	1,80	18,9	1,60
4,2	3,04	7,9	2,43	11,6	2,06	15,3	1,80	19,0	1,59
4,3	3,01	8,0	2,42	11,7	2,05	15,4	1,79	19,1	1,59
4,4	2,99	8,1	2,41	11,8	2,05	15,5	1,79	19,2	1,58
4,5	2,97	8,2	2,39	11,9	2,04	15,6	1,78	19,3	1,58
4,6	2,95	8,3	2,38	12,0	2,03	15,7	1,77	19,4	1,57
4,7	2,93	8,4	2,37	12,1	2,02	15,8	1,77	19,5	1,57
4,8	2,91	8,5	2,36	12,2	2,01	15,9	1,76	19,6	1,56
4,9	2,89	8,6	2,35	12,3	2,01	16,0	1,76	19,7	1,56
5,0	2,87	8,7	2,34	12,4	2,00	16,1	1,75	19,8	1,55
5,1	2,85	8,8	2,33	12,5	1,99	16,2	1,74	19,9	1,55
5,2	2,83	8,9	2,32	12,6	1,98	16,3	1,74	20,0	1,54
5,3	2,81	9,0	2,31	12,7	1,97	16,4	1,73	20,2	1,53
5,4	2,79	9,1	2,29	12,8	1,97	16,5	1,73	20,4	1,52
5,5	2,78	9,2	2,28	12,9	1,96	16,6	1,72	20,6	1,51
5,6	2,76	9,3	2,27	13,0	1,95	16,7	1,71	20,8	1,50

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
21,0	1,49	28,2	1,21	35,4	0,99	46,5	0,73	69,0	0,36
21,2	1,49	28,4	1,21	35,6	0,99	47,0	0,72	70,0	0,34
21,4	1,48	28,6	1,20	35,8	0,98	47,5	0,71	71,0	0,33
21,6	1,46	28,8	1,19	36,0	0,98	48,0	0,70	72,0	0,31
21,8	1,46	29,0	1,19	36,2	0,97	48,5	0,69	73,0	0,30
22,0	1,45	29,2	1,18	36,4	0,97	49,0	0,68	74,0	0,29
22,2	1,44	29,4	1,17	36,6	0,96	49,5	0,67	75,0	0,27
22,4	1,43	29,6	1,17	36,8	0,96	50,0	0,66	76,0	0,26
22,6	1,42	29,8	1,16	37,0	0,95	50,5	0,65	77,0	0,25
22,8	1,42	30,0	1,15	37,2	0,95	51,0	0,64	78,0	0,24
23,0	1,41	30,2	1,15	37,4	0,94	51,5	0,63	79,0	0,23
23,2	1,40	30,4	1,14	37,6	0,94	52,0	0,63	80,0	0,21
23,4	1,39	30,6	1,14	37,8	0,93	52,5	0,62	81,0	0,20
23,6	1,38	30,8	1,13	38,0	0,93	53,0	0,61	82,0	0,19
23,8	1,37	31,0	1,12	38,2	0,92	53,5	0,60	83,0	0,18
24,0	1,37	31,2	1,12	38,4	0,92	54,0	0,59	84,0	0,17
24,2	1,36	31,4	1,11	38,6	0,91	54,5	0,58	85,0	0,16
24,4	1,35	31,6	1,10	38,8	0,91	55,0	0,57	86,0	0,14
24,6	1,34	31,8	1,10	39,0	0,90	55,5	0,56	87,0	0,13
24,8	1,34	32,0	1,09	39,2	0,90	56,0	0,55	88,0	0,12
25,0	1,33	32,2	1,09	39,4	0,89	56,5	0,55	89,0	0,11
25,2	1,32	32,4	1,08	39,6	0,89	57,0	0,54	90,0	0,10
25,4	1,31	32,6	1,07	39,8	0,88	57,5	0,53	91,0	0,09
25,6	1,31	32,8	1,07	40,0	0,88	58,0	0,52	92,0	0,08
25,8	1,30	33,0	1,06	40,5	0,87	58,5	0,51	93,0	0,07
26,0	1,29	33,2	1,06	41,0	0,85	59,0	0,51	94,0	0,06
26,2	1,28	33,4	1,05	41,5	0,84	59,5	0,50	95,0	0,05
26,4	1,27	33,6	1,04	42,0	0,83	60,0	0,49	96,0	0,04
26,6	1,27	33,8	1,04	42,5	0,82	61,0	0,47	97,0	0,03
26,8	1,26	34,0	1,03	43,0	0,81	62,0	0,46	98,0	0,02
27,0	1,25	34,2	1,03	43,5	0,80	63,0	0,44	99,0	0,01
27,2	1,25	34,4	1,02	44,0	0,79	64,0	0,43	100,0	0,00
27,4	1,24	34,6	1,02	44,5	0,78	65,0	0,41		
27,6	1,23	34,8	1,01	45,0	0,76	66,0	0,40		
27,8	1,23	35,0	1,01	45,5	0,75	67,0	0,38		
28,0	1,22	35,2	1,00	46,0	0,74	68,0	0,37		

Tabelle V.

Gefärbt in ammoniakalischer Lösung.

Filter S 43. Schichtdicke 150 mm.

D = der abgelesene Trommelwert.

A = Eisen in mg pro 1000 ccm Wasser.

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
2,0	1,25	5,7	0,91	9,4	0,76	13,1	0,65	16,8	0,57
2,1	1,23	5,8	0,91	9,5	0,75	13,2	0,65	16,9	0,57
2,2	1,22	5,9	0,90	9,6	0,75	13,3	0,64	17,0	0,57
2,3	1,20	6,0	0,90	9,7	0,74	13,4	0,64	17,1	0,56
2,4	1,19	6,1	0,90	9,8	0,74	13,5	0,64	17,2	0,56
2,5	1,18	6,2	0,89	9,9	0,74	13,6	0,64	17,3	0,56
2,6	1,16	6,3	0,88	10,0	0,73	13,7	0,63	17,4	0,56
2,7	1,15	6,4	0,88	10,1	0,73	13,8	0,63	17,5	0,56
2,8	1,14	6,5	0,87	10,2	0,73	13,9	0,63	17,6	0,55
2,9	1,13	6,6	0,87	10,3	0,73	14,0	0,63	17,7	0,55
3,0	1,12	6,7	0,86	10,4	0,72	14,1	0,63	17,8	0,55
3,1	1,11	6,8	0,86	10,5	0,72	14,2	0,62	17,9	0,55
3,2	1,10	6,9	0,85	10,6	0,72	14,3	0,62	18,0	0,55
3,3	1,09	7,0	0,85	10,7	0,71	14,4	0,62	18,1	0,55
3,4	1,08	7,1	0,84	10,8	0,71	14,5	0,62	18,2	0,54
3,5	1,07	7,2	0,84	10,9	0,71	14,6	0,61	18,3	0,54
3,6	1,06	7,3	0,84	11,0	0,70	14,7	0,61	18,4	0,54
3,7	1,05	7,4	0,83	11,1	0,70	14,8	0,61	18,5	0,54
3,8	1,04	7,5	0,83	11,2	0,70	14,9	0,61	18,6	0,54
3,9	1,04	7,6	0,82	11,3	0,70	15,0	0,61	18,7	0,53
4,0	1,03	7,7	0,82	11,4	0,69	15,1	0,60	18,8	0,53
4,1	1,02	7,8	0,81	11,5	0,69	15,2	0,60	18,9	0,53
4,2	1,01	7,9	0,81	11,6	0,69	15,3	0,60	19,0	0,53
4,3	1,00	8,0	0,81	11,7	0,68	15,4	0,60	19,1	0,53
4,4	1,00	8,1	0,80	11,8	0,68	15,5	0,59	19,2	0,53
4,5	0,99	8,2	0,80	11,9	0,68	15,6	0,59	19,3	0,52
4,6	0,98	8,3	0,79	12,0	0,68	15,7	0,59	19,4	0,52
4,7	0,98	8,4	0,79	12,1	0,67	15,8	0,59	19,5	0,52
4,8	0,97	8,5	0,79	12,2	0,67	15,9	0,59	19,6	0,52
4,9	0,96	8,6	0,78	12,3	0,67	16,0	0,58	19,7	0,52
5,0	0,96	8,7	0,78	12,4	0,67	16,1	0,58	19,8	0,52
5,1	0,95	8,8	0,78	12,5	0,66	16,2	0,58	19,9	0,51
5,2	0,94	8,9	0,77	12,6	0,66	16,3	0,58	20,0	0,51
5,3	0,94	9,0	0,77	12,7	0,66	16,4	0,58	20,2	0,51
5,4	0,93	9,1	0,77	12,8	0,66	16,5	0,57	20,4	0,51
5,5	0,93	9,2	0,76	12,9	0,65	16,6	0,57	20,6	0,50
5,6	0,92	9,3	0,76	13,0	0,65	16,7	0,57	20,8	0,50

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
21,0	0,50	28,2	0,40	35,4	0,33	46,5	0,24	69,0	0,12
21,2	0,49	28,4	0,40	35,6	0,33	47,0	0,24	70,0	0,11
21,4	0,49	28,6	0,40	35,8	0,33	47,5	0,24	71,0	0,11
21,6	0,49	28,8	0,40	36,0	0,33	48,0	0,23	72,0	0,10
21,8	0,49	29,0	0,39	36,2	0,32	48,5	0,23	73,0	0,10
22,0	0,48	29,2	0,39	36,4	0,32	49,0	0,23	74,0	0,10
22,2	0,48	29,4	0,39	36,6	0,32	49,5	0,22	75,0	0,09
22,4	0,48	29,6	0,39	36,8	0,32	50,0	0,22	76,0	0,09
22,6	0,47	29,8	0,39	37,0	0,32	50,5	0,22	77,0	0,08
22,8	0,47	30,0	0,38	37,2	0,32	51,0	0,21	78,0	0,08
23,0	0,47	30,2	0,38	37,4	0,31	51,5	0,21	79,0	0,07
23,2	0,47	30,4	0,38	37,6	0,31	52,0	0,21	80,0	0,07
23,4	0,46	30,6	0,38	37,8	0,31	52,5	0,21	81,0	0,07
23,6	0,46	30,8	0,38	38,0	0,31	53,0	0,20	82,0	0,06
23,8	0,46	31,0	0,37	38,2	0,31	53,5	0,20	83,0	0,06
24,0	0,45	31,2	0,37	38,4	0,30	54,0	0,20	84,0	0,06
24,2	0,45	31,4	0,37	38,6	0,30	54,5	0,19	85,0	0,05
24,4	0,45	31,6	0,37	38,8	0,30	55,0	0,19	86,0	0,05
24,6	0,45	31,8	0,37	39,0	0,30	55,5	0,19	87,0	0,04
24,8	0,44	32,0	0,36	39,2	0,30	56,0	0,18	88,0	0,04
25,0	0,44	32,2	0,36	39,4	0,30	56,5	0,18	89,0	0,04
25,2	0,44	32,4	0,36	39,6	0,30	57,0	0,18	90,0	0,03
25,4	0,44	32,6	0,36	39,8	0,29	57,5	0,18	91,0	0,03
25,6	0,43	32,8	0,36	40,0	0,29	58,0	0,17	92,0	0,03
25,8	0,43	33,0	0,35	40,5	0,29	58,5	0,17	93,0	0,02
26,0	0,43	33,2	0,35	41,0	0,28	59,0	0,17	94,0	0,02
26,2	0,43	33,4	0,35	41,5	0,28	59,5	0,17	95,0	0,02
26,4	0,42	33,6	0,35	42,0	0,28	60,0	0,16	96,0	0,01
26,6	0,42	33,8	0,35	42,5	0,27	61,0	0,16	97,0	0,01
26,8	0,42	34,0	0,34	43,0	0,27	62,0	0,15	98,0	0,01
27,0	0,42	34,2	0,34	43,5	0,27	63,0	0,15	99,0	0,00
27,2	0,42	34,4	0,34	44,0	0,26	64,0	0,14	100,0	0,00
27,4	0,41	34,6	0,34	44,5	0,26	65,0	0,14		
27,6	0,41	34,8	0,34	45,0	0,25	66,0	0,13		
27,8	0,41	35,0	0,33	45,5	0,25	67,0	0,13		
28,0	0,41	35,2	0,33	46,0	0,25	68,0	0,12		

Tabelle VI.

Gefärbt in saurer Lösung.

Filter S 50. Schichtdicke 30 mm.

D = der abgelesene Trommelwert.

A = Eisen in mg pro 1000 ccm Wasser.

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
2,0	17,80	5,7	13,05	9,4	10,77	13,1	9,26	16,8	8,12
2,1	17,59	5,8	12,97	9,5	10,72	13,2	9,22	16,9	8,10
2,2	17,38	5,9	12,89	9,6	10,68	13,3	9,19	17,0	8,07
2,3	17,18	6,0	12,81	9,7	10,62	13,4	9,15	17,1	8,04
2,4	16,99	6,1	12,74	9,8	10,58	13,5	9,12	17,2	8,02
2,5	16,80	6,2	12,65	9,9	10,53	13,6	9,09	17,3	7,99
2,6	16,62	6,3	12,59	10,0	10,48	13,7	9,05	17,4	7,96
2,7	16,45	6,4	12,52	10,1	10,44	13,8	9,02	17,5	7,94
2,8	16,28	6,5	12,44	10,2	10,40	13,9	8,99	17,6	7,91
2,9	16,12	6,6	12,37	10,3	10,35	14,0	8,95	17,7	7,89
3,0	15,97	6,7	12,31	10,4	10,31	14,1	8,92	17,8	7,86
3,1	15,82	6,8	12,24	10,5	10,26	14,2	8,89	17,9	7,83
3,2	15,68	6,9	12,18	10,6	10,22	14,3	8,86	18,0	7,81
3,3	15,53	7,0	12,11	10,7	10,18	14,4	8,83	18,1	7,78
3,4	15,40	7,1	12,05	10,8	10,13	14,5	8,79	18,2	7,76
3,5	15,27	7,2	11,99	10,9	10,09	14,6	8,75	18,3	7,73
3,6	15,14	7,3	11,92	11,0	10,05	14,7	8,73	18,4	7,71
3,7	15,02	7,4	11,86	11,1	10,01	14,8	8,70	18,5	7,68
3,8	14,89	7,5	11,77	11,2	9,97	14,9	8,67	18,6	7,66
3,9	14,78	7,6	11,73	11,3	9,92	15,0	8,64	18,7	7,64
4,0	14,66	7,7	11,67	11,4	9,89	15,1	8,61	18,8	7,61
4,1	14,55	7,8	11,62	11,5	9,84	15,2	8,58	18,9	7,59
4,2	14,44	7,9	11,58	11,6	9,81	15,3	8,55	19,0	7,56
4,3	14,32	8,0	11,50	11,7	9,77	15,4	8,52	19,1	7,54
4,4	14,22	8,1	11,44	11,8	9,73	15,5	8,49	19,2	7,52
4,5	14,12	8,2	11,39	11,9	9,69	15,6	8,46	19,3	7,49
4,6	14,02	8,3	11,34	12,0	9,66	15,7	8,43	19,4	7,47
4,7	13,93	8,4	11,28	12,1	9,62	15,8	8,40	19,5	7,45
4,8	13,83	8,5	11,23	12,2	9,58	15,9	8,37	19,6	7,42
4,9	13,74	8,6	11,17	12,3	9,54	16,0	8,35	19,7	7,40
5,0	13,64	8,7	11,12	12,4	9,51	16,1	8,32	19,8	7,37
5,1	13,55	8,8	11,07	12,5	9,47	16,2	8,29	19,9	7,35
5,2	13,46	8,9	11,02	12,6	9,43	16,3	8,26	20,0	7,33
5,3	13,38	9,0	10,99	12,7	9,40	16,4	8,23	20,2	7,28
5,4	13,30	9,1	10,92	12,8	9,36	16,5	8,20	20,4	7,24
5,5	13,21	9,2	10,86	12,9	9,33	16,6	8,18	20,6	7,19
5,6	13,13	9,3	10,81	13,0	9,29	16,7	8,15	20,8	7,15

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
21,0	7,11	28,2	5,76	35,4	4,73	46,5	3,49	69,0	1,69
21,2	7,06	28,4	5,73	35,6	4,70	47,0	3,44	70,0	1,62
21,4	7,02	28,6	5,70	35,8	4,68	47,5	3,39	71,0	1,56
21,6	6,98	28,8	5,67	36,0	4,65	48,0	3,34	72,0	1,50
21,8	6,94	29,0	5,64	36,2	4,63	48,5	3,30	73,0	1,43
22,0	6,90	29,2	5,61	36,4	4,60	49,0	3,25	74,0	1,37
22,2	6,85	29,4	5,57	36,6	4,58	49,5	3,20	75,0	1,31
22,4	6,81	29,6	5,54	36,8	4,55	50,0	3,16	76,0	1,25
22,6	6,77	29,8	5,51	37,0	4,53	50,5	3,11	77,0	1,19
22,8	6,73	30,0	5,48	37,2	4,50	51,0	3,07	78,0	1,13
23,0	6,69	30,2	5,45	37,4	4,47	51,5	3,02	79,0	1,07
23,2	6,65	30,4	5,42	37,6	4,45	52,0	2,98	80,0	1,02
23,4	6,61	30,6	5,39	37,8	4,43	52,5	2,93	81,0	0,96
23,6	6,58	30,8	5,36	38,0	4,41	53,0	2,89	82,0	0,90
23,8	6,54	31,0	5,33	38,2	4,38	53,5	2,85	83,0	0,85
24,0	6,50	31,2	5,30	38,4	4,36	54,0	2,81	84,0	0,79
24,2	6,46	31,4	5,28	38,6	4,34	54,5	2,76	85,0	0,74
24,4	6,42	31,6	5,25	38,8	4,31	55,0	2,72	86,0	0,69
24,6	6,39	31,8	5,22	39,0	4,30	55,5	2,68	87,0	0,63
24,8	6,35	32,0	5,19	39,2	4,26	56,0	2,64	88,0	0,58
25,0	6,31	32,2	5,16	39,4	4,24	56,5	2,60	89,0	0,53
25,2	6,28	32,4	5,13	39,6	4,22	57,0	2,56	90,0	0,48
25,4	6,24	32,6	5,10	39,8	4,20	57,5	2,52	91,0	0,43
25,6	6,21	32,8	5,08	40,0	4,17	58,0	2,48	92,0	0,38
25,8	6,17	33,0	5,05	40,5	4,12	58,5	2,44	93,0	0,33
26,0	6,13	33,2	5,02	41,0	4,06	59,0	2,40	94,0	0,28
26,2	6,10	33,4	4,99	41,5	4,01	59,5	2,37	95,0	0,23
26,4	6,07	33,6	4,97	42,0	3,95	60,0	2,33	96,0	0,19
26,6	6,03	33,8	4,94	42,5	3,90	61,0	2,25	97,0	0,14
26,8	6,00	34,0	4,91	43,0	3,84	62,0	2,18	98,0	0,09
27,0	5,96	34,2	4,89	43,5	3,79	63,0	2,10	99,0	0,05
27,2	5,93	34,4	4,86	44,0	3,74	64,0	2,03	100,0	0,00
27,4	5,90	34,6	4,83	44,5	3,69	65,0	1,96		
27,6	5,86	34,8	4,81	45,0	3,64	66,0	1,89		
27,8	5,83	35,0	4,78	45,5	3,59	67,0	1,82		
28,0	5,80	35,2	4,75	46,0	3,54	68,0	1,76		

Tabelle VII.

Gefärbt in saurer Lösung.

Filter S 50. Schichtdicke 150 mm.

D = der abgelesene Trommelwert.

A = Eisen in mg pro 1000 ccm Wasser.

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
2,0	3.56	5,7	2.61	9,4	2.15	13,1	1,85	16,8	1.62
2,1	3,52	5,8	2,59	9,5	2.14	13,2	1,84	16,9	1,61
2,2	3,48	5,9	2,58	9,6	2,14	13,3	1,84	17,0	1,61
2,3	3,44	6,0	2,56	9,7	2.12	13,4	1,83	17,1	1.61
2,4	3,40	6,1	2.55	9,8	2.12	13.5	1,82	17.2	1,60
2,5	3,36	6,2	2.53	9,9	2,11	13,6	1,82	17.3	1,60
2,6	3,32	6,3	2,52	10,0	2.10	13,7	1.81	17.4	1,59
2,7	3,29	6,4	2.50	10,1	2,09	13,8	1.80	17.5	1,59
2,8	3,26	6,5	2,49	10,2	2,08	13,9	1.80	17.6	1,58
2,9	3,22	6,6	2,47	10,3	2,07	14.0	1,79	17.7	1.58
3,0	3,19	6,7	2.46	10,4	2,06	14,1	1,79	17.8	1,57
3,1	3,16	6.8	2,45	10,5	2.05	14,2	1.78	17.9	1,57
3,2	3,14	6,9	2,44	10.6	2,04	14,3	1.77	18.0	1,56
3,3	3,10	7,0	2.42	10,7	2,04	14,4	1.77	18.1	1.56
3,4	3,08	7,1	2.41	10,8	2,03	14.5	1,76	18.2	1,55
3,5	3.05	7,2	2,40	10,9	2,02	14.6	1,75	18.3	1.55
3,6	3,03	7.3	2.38	11.0	2.01	14,7	1.75	18.4	1.54
3,7	3,00	7,4	2,37	11,1	2,00	14.8	1,74	18.5	1.54
3,8	2,98	7,5	2.35	11,2	1,99	14,9	1.73	18.6	1.53
3,9	2.96	7,6	2.34	11.3	1,98	15.0	1.73	18.7	1.53
4,0	2.93	7,7	2.33	11,4	1.98	15.1	1.72	18.8	1,52
4,1	2.91	7,8	2.32	11,5	1,97	15,2	1.72	18.9	1.52
4,2	2.89	7,9	2.32	11,6	1,96	15.3	1,71	19.0	1,51
4,3	2,86	8,0	2,30	11.7	1,95	15,4	1,70	19.1	1,51
4,4	2.84	8,1	2.29	11.8	1,95	15.5	1.70	19.2	1,50
4,5	2.82	8.2	2.28	11.9	1,94	15,6	1,69	19.3	1.50
4,6	2.80	8,3	2.27	12,0	1,93	15.7	1.69	19.4	1,49
4,7	2,79	8,4	2.26	12,1	1,92	15,8	1.68	19.5	1,49
4,8	2.77	8.5	2.25	12.2	1,92	15.9	1.67	19.6	1,48
4,9	2,75	8,6	2.23	12,3	1,91	16.0	1.67	19.7	1,48
5,0	2.72	8,7	2.22	12,4	1,90	16.1	1,66	19.8	1,47
5,1	2.71	8.8	2.21	12,5	1,89	16.2	1.66	19.9	1,47
5.2	2.69	8,9	2.20	12,6	1.89	16.3	1.65	20.0	1,47
5.3	2,68	9,0	2.20	12,7	1.88	16.4	1.65	20.2	1,46
5,4	2,66	9,1	2,18	12,8	1,87	16,5	1,64	20.4	1.45
5,5	2,64	9,2	2,17	12,9	1,87	16,6	1,64	20.6	1.44
5,6	2.63	9.3	2.16	13,0	1,86	16.7	1,63	20,8	1,43

D	A	D	A	D	A	D	A	D	A
21,0	1,42	28,2	1,15	35,4	0,95	46,5	0,70	69,0	0,34
21,2	1,41	28,4	1,15	35,6	0,94	47,0	0,69	70,0	0,32
21,4	1,40	28,6	1,14	35,8	0,94	47,5	0,68	71,0	0,31
21,6	1,40	28,8	1,13	36,0	0,93	48,0	0,67	72,0	0,30
21,8	1,39	29,0	1,13	36,2	0,93	48,5	0,66	73,0	0,29
22,0	1,38	29,2	1,12	36,4	0,92	49,0	0,65	74,0	0,27
22,2	1,37	29,4	1,11	36,6	0,92	49,5	0,64	75,0	0,26
22,4	1,36	29,6	1,11	36,8	0,91	50,0	0,63	76,0	0,25
22,6	1,35	29,8	1,10	37,0	0,91	50,5	0,62	77,0	0,24
22,8	1,35	30,0	1,10	37,2	0,90	51,0	0,61	78,0	0,23
23,0	1,34	30,2	1,09	37,4	0,89	51,5	0,60	79,0	0,21
23,2	1,33	30,4	1,08	37,6	0,89	52,0	0,60	80,0	0,20
23,4	1,32	30,6	1,08	37,8	0,89	52,5	0,59	81,0	0,19
23,6	1,32	30,8	1,07	38,0	0,88	53,0	0,58	82,0	0,18
23,8	1,31	31,0	1,07	38,2	0,88	53,5	0,57	83,0	0,17
24,0	1,30	31,2	1,06	38,4	0,87	54,0	0,56	84,0	0,16
24,2	1,29	31,4	1,06	38,6	0,87	54,5	0,55	85,0	0,15
24,4	1,28	31,6	1,05	38,8	0,86	55,0	0,55	86,0	0,14
24,6	1,28	31,8	1,04	39,0	0,86	55,5	0,54	87,0	0,13
24,8	1,27	32,0	1,04	39,2	0,85	56,0	0,53	88,0	0,12
25,0	1,26	32,2	1,03	39,4	0,85	56,5	0,52	89,0	0,11
25,2	1,26	32,4	1,03	39,6	0,84	57,0	0,51	90,0	0,10
25,4	1,25	32,6	1,02	39,8	0,84	57,5	0,50	91,0	0,09
25,6	1,24	32,8	1,02	40,0	0,83	58,0	0,50	92,0	0,08
25,8	1,23	33,0	1,01	40,5	0,82	58,5	0,49	93,0	0,07
26,0	1,23	33,2	1,00	41,0	0,81	59,0	0,48	94,0	0,06
26,2	1,22	33,4	1,00	41,5	0,80	59,5	0,47	95,0	0,05
26,4	1,21	33,6	0,99	42,0	0,79	60,0	0,46	96,0	0,04
26,6	1,21	33,8	0,99	42,5	0,78	61,0	0,45	97,0	0,03
26,8	1,20	34,0	0,98	43,0	0,77	62,0	0,43	98,0	0,02
27,0	1,19	34,2	0,98	43,5	0,76	63,0	0,42	99,0	0,01
27,2	1,19	34,4	0,97	44,0	0,75	64,0	0,41	100,0	0,00
27,4	1,18	34,6	0,97	44,5	0,74	65,0	0,39		
27,6	1,17	34,8	0,96	45,0	0,73	66,0	0,38		
27,8	1,17	35,0	0,96	45,5	0,72	67,0	0,36		
28,0	1,16	35,2	0,95	46,0	0,71	68,0	0,35		

wird, und weiter wie bei der Bestimmung des Ferrieisens verfahren. Die Tabelle II enthält einige Eisenbestimmungen, die nach oben beschriebener Methode durchgeführt wurden.

Kurze Zusammenfassung.

Es wird eine stufenphotometrische, quantitative Bestimmung des Eisens angegeben, bei der sowohl der Ferri- als auch der Gesamteisengehalt mit denselben Reagenzien ermittelt werden kann. Der Gehalt an Ferrosalzen wird aus der Differenz zwischen Gesamteisengehalt und Ferrisalzgehalt errechnet.

Herrn L. GOLDENBERG bin ich für seine Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

Nach Abschluß der Arbeit erhielten wir von der Veröffentlichung F. ALTEN, H. WEIHLAND und E. HILLE: Kolorimetrische Eisenbestimmung mit Sulfosalicylsäure, Ztschr. anorgan. Chem., **215**, 81 (1933), Kenntnis, in der auf den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration hingewiesen wird. Nach der hier wiedergegebenen Vorschrift aber ist eine g e n a u e Beachtung der Wasserstoffionenkonzentration nicht notwendig, womit selbstverständlich gegen die Angaben F. ALTEN's und seiner Mitarbeiter, die wir überprüft haben und bestätigen können, kein Einwand erhoben sei.

Über eine einfache tyndallmetrische Methode zur Messung von Lipasewirkungen.

Von

E. Herzfeld.

Aus dem Mediz.-chem. Institut der Mediz. Universitätsklinik Zürich.

(Eingelangt am 21. April 1934.)

Die bisher ausgeübten Lipasebestimmungsmethoden sind nach den drei folgenden Arten ausgeführt worden:

1. Stalagnometrisch nach Rona (Rona u. Michaelis, Biochem. Ztschr., **31**, 345 [1911]; Rona, Handbuch d. biochem. Arbeitsmethod., S. 302, 1915).

2. Titrimetrisch nach Willstätter (R. Willstätter, E. Waldschmidt-Leitz, Fr. Memmen, Ztschr. physiol. Chem., **125**, 93 [1922]; ferner Knaffl-Lenz, Arch. exp. Path. u. Pharm., **97**, 242 [1923]).

3. Gasanalytisch nach Rona und Lasnitzki (Rona und Lasnitzki, Biochem. Ztschr., **152**, 504 [1924]).

Ohne auf eine Beschreibung und Kritik obiger Methoden einzugehen, möchte Verfasser eine neue, einfache, tyndallmetrische Methode beschreiben, bei welcher die Abnahme der Intensität in einer wäßrigen, trüben Tributyrinlösung als Maßstab der Lipasewirkung angewandt wird. Beim Vergleich verschiedener bisher empfohlener Pufferlösungen zur Messung der Lipasewirkung zeigte es sich, daß die eindeutigsten und besten Ausschläge bei Anwendung einer 0,5%igen Natriumbicarbonatlösung erhalten werden konnten.

Erforderliche Reagenzien:

1. Eine frisch hergestellte 1%ige Natriumbicarbonatlösung (sie wird nach den entsprechenden Zusätzen auf die Konzentration von 0,5% gebracht).

2. Eine 1%ige alkoholische (Alkohol absolut) Tributyrinlösung.

3. Eine 10%ige gereinigte Gummiarabicumlösung.

Aus einem Gummiarabicum-Handelspräparat wird zunächst eine konzentrierte, zirka 30%ige Lösung in der Kälte hergestellt (Vermischen in einer Reibschale). Sodann fügt man etwa 10 ccm einer verdünnten Salzsäure hinzu, vermischt und fällt unter allmählichem Hinzufügen von 95%igem Alkohol das Gummiarabicum wieder aus. Die gelbe Lösung wird vom weißen, käsigen Niederschlag abgegossen, der Rückstand wieder im Wasser gelöst, und abermals mit Alkohol gefällt. Nach dem Abgießen vom Gummiarabicumniederschlag wird dasselbe getrocknet und aus dem schneeweißen Pulver eine 10%ige wäßrige Lösung (in der Kälte) hergestellt. Die so erhaltene Lösung wird, wenn nötig, durch Zentrifugieren geklärt. Die Lösung ist haltbar und wird als Schutzkolloid für die Tributyrinlösung verwendet.

Prüfung der Empfindlichkeitsgrenze verschiedener Lipasepräparate.

Es wurden fast ausschließlich Pankreaspräparate verschiedener Provenienz untersucht. Frisch hergestellte 0,1- bis 1%ige Lösungen in 1%iger Natriumbicarbonatlösung wurden wie folgt verarbeitet: Man bereitet sich eine Röhrchenreihe, bei welcher das erste Röhrchen 1 ccm der betreffenden Lipaselösung erhält, ebenso 1 ccm das zweite Röhrchen, welchem noch 1 ccm der 1%igen Bicarbonatlösung zugefügt wird. Alle übrigen Röhrchen der Reihe erhalten je 1 ccm der 1%igen Natriumbicarbonatlösung. Man vermischt den Inhalt des zweiten Röhrchens, pipettiert hiervon 1 ccm in das dritte Röhrchen, vermischt und pipettiert auch hieraus 1 ccm in das vierte Röhrchen usw., bis bei wirksamen Lösungen die 20. Röhre erreicht ist. Zur Herstellung der Tributyrinlösung bringt man in einen 200 ccm fassenden ERLENMEYER-Kolben 3 ccm der 10%igen Gummiarabicumlösung sowie 97 ccm Wasser, vermischt, pipettiert 20 ccm aus dieser Lösung heraus und spritzt in die restlichen 80 ccm unter stetem Mischen 20 ccm der 1%igen Tributyrinlösung hinein. Von dieser frisch hergestellten Lösung verteilt man je 1 ccm in jedes Röhrchen der oben beschriebenen Reihe. Bei Anwesenheit von Lipase kann sehr bald in den ersten Röhrchen schon bei Zimmertemperatur eine Aufhellung beobachtet werden, welche nach einer Stunde Stehen bei Zimmertemperatur das Optimum er-

reicht. Es konnte festgestellt werden, daß kürzere oder längere Einwirkung bei Brutschranktemperatur die Resultate nicht verbessert.

Sofort nach dem Abfüllen der Lösungen wird im Tyndallmeter der Anfangstyndallwert, bezw. der Nullpunkt in dem letzten Röhrchen bestimmt. Diese Werte müssen nach einer Stunde Stehen (und Schütteln der Lösungen) bestätigt werden. Der häufigste Wert für den Nullpunkt beträgt 1,5 mm Schichtdicke im Vergleich mit dem Standardstab, welcher auf 1 mm eingestellt ist. Nach einer Stunde füllt man den Inhalt der Röhrchen, begonnen beim ersten, in den Quarzbehälter des Tyndallmeters und verändert im Vergleich mit dem Standardstab (eingestellt auf 1 mm) die Schichtdicke des Tyndallkegels solange, bis gleiche Intensität erreicht ist. Dasjenige Röhrchen, dessen Inhalt eine Verdopplung des Nullwertes (1,5 mm) zeigt, entspricht dem kleinsten meßbaren Ausschlag der Lipasewirkung. Als Beispiel einer solchen Ablesung, ausgehend von einem vollständig löslichen Trypsinpräparat Henning, mögen die Versuchsergebnisse von 1- und 0,1%igen Lösungen angeführt werden.

	Henning 1%		Henning 0,1%	
	mg	mm	mg	mm
1.	5,0	15,6	0,5	19,3
2.	2,5	19,1	0,25	20,1
3.	1,25	21,0	0,125	22,3
4.	0,625	22,1	0,06	21,9
5.	0,31	22,4	0,03	21,9
6.	0,16	21,8	0,016	22,4
7.	0,08	22,0	0,008	22,0
8.	0,04	21,7	0,004	22,4
9.	0,02	22,2	0,002	22,8
10.	0,01	21,6	0,001	14,8
11.	0,005	21,1	0,0005	10,9
12.	0,0025	15,0	0,00025	4,2
13.	0,0012	13,0	0,00012	3,5
14.	0,0006	10,0	0,00006	3,0
15.	0,0003	4,2	0,00003	2,4
16.	0,00016	2,9	0,000016	2,0
17.	0,00008	2,0	0,000008	2,0

Anfangstyndallwert = 2,0 mm

Aus obigem geht hervor, daß die Lipasewirkung mit der aufgelösten Fermentmenge durchaus proportional verläuft. Im Vergleich mit vielen anderen Fermentpräparaten, wie von den Firmen: Krause Medico, Kali Chemie (Rhenania), Schuchardt, Parke Davis, Henning, zeigte das letztgenannte die stärkste und gleichmäßigste Wirkung. Der Mittelwert der sehr zahlreichen Untersuchungen betrug 0,0003 mg. Verfasser möchte diesen Wert als Vergleichszahl für Lipasebestimmungen empfehlen, indem bei einer unbekannten Lipasewirkung in der Verdünnungsreihe der kleinste Ausschlag (Verdopplung des Anfangstyndallwertes) einer Fermentmenge von 0,0003 mg gleichgestellt wird.

Nachdem die oben beschriebene Methode gleichmäßige Resultate lieferte, galt es zunächst festzustellen, welchen Einfluß beschleunigende und hemmende Faktoren der Lipasewirkung ausüben, namentlich ob die in der Literatur vorgefundenen diesbezüglichen Angaben sich auch mit dieser Methode bestätigen ließen. Von den bisher bekannten Aktivatoren wurden besonders die Gallensäuren auf ihre Wirkung geprüft. Magensaft, Blut und Urin zeigten gegenüber Gallensäuren keine Wirkung. Im Duodenalsaft aber war eine deutliche beschleunigende Wirkung der Gallensäuren nachzuweisen. Als Beispiel einer aktivierenden Wirkung von Gallensäuren (gereinigte Rindergalle) möge folgender Versuch angeführt werden:

	Duodenalsaft allein		Duodenalsaft + Aktivator	
	mm	mg	mm	mg
1.	10,4	20.0	12,8	20,0
2.	12,8	10,0	14,1	10,0
3.	14,4	5,0	15,0	5,0
4.	19,9	2,5	18,1	2,5
5.	20,9	1,25	20,0	1,25
6.	21,6	0,6	21,4	0,6
7.	22,1	0,3	21,5	0,3
8.	21,8	0,16	21,7	0,16
9.	22,0	0,08	22,6	0,08
10.	22,9	0,04	21,5	0,04
11.	21,3	0,02	21,8	0,02
12.	21,8	0,01	22,0	0,01
13.	21,5	0,005	21,3	0,005

	Duodenalsaft allein		Duodenalsaft + Aktivator	
	mm	mg	mm	mg
14.	20,8	0,0025	21,7	0,0025
15.	14,5	0,00125	15,9	0,00125
16.	8,5	0,0006	12,2	0,0006
17.	3,4	0,0003	4,0	0,0003
18.	2,5		2,9	
19.	2,0		2,1	
20.	1,8		1,8	
21.	1,6		1,6	
		2000 mg%		3000 mg%

Anfangstyndallwert = 1,6 mm

Die Gallensäuren haben demnach eine 50%ige Verstärkung der Wirkung hervorgerufen.

Was die hemmenden Stoffe anbelangt, sollen nach verschiedenen Literaturangaben menschliche Serumlipase gegen Chinin etwa 1000mal empfindlicher sein als menschliche Leberlipase, aber gegen Atoxyl weniger resistent (Rona und Bien, Biochem. Ztschr., **64**, 13 [1914], **59**, 100 [1914], Pavlovitz, **134**, 108 [1923], Takata, **134**, 118 [1923], Haas, **141**, 222 [1923]). Zur Prüfung, ob eine solche Wirkung von Atoxyl und Chinin auch mit der oben beschriebenen Methodik nachweisbar ist, wurden verschiedene Pankreaspräparate sowie einige frische Extrakte aus menschlicher Leber untersucht. Chinin und Atoxyl zeigten bei Anwendung von 0,1%igen Lösungen (0,1 g Chininsulfat, bezw. 0,1 g Atoxyl, in 100 ccm der frisch hergestellten Fermentlösung gelöst) gegenüber dem Kontrollversuch den gleichen Ausschlag.

Die oben beschriebene Methode wurde an verschiedenen Körperflüssigkeiten unter Berücksichtigung der Reaktion ausprobiert. So konnten die alkalisch reagierenden Körperflüssigkeiten direkt mit Bicarbonat verdünnt werden, wogegen die sauer reagierenden mit Bicarbonat in Substanz zuerst neutralisiert und dann bis 1% alkalisiert wurden. Lipasehaltig war vor allem der Duodenalsaft. Nach den bisherigen Untersuchungen konnten verschiedene, sogar beträchtlich hohe Werte (bis 2500 mg%) und nach Magnesiumsulfat noch höhere Werte gefunden werden. Ebenso enthielt der Magensaft stets Lipase, aber in weitaus geringeren Mengen

wie der Duodenalsaft. Im Blutserum war auch sehr häufig Lipase nachweisbar, die ermittelten Mengen schwankten zwischen 0,06 und 5 mg%. Es waren aber auch Fälle, bei welchen mit der oben angegebenen Methode keine Lipasewirkung nachweisbar war. Es dürfte sich hier um Lipasemengen handeln, welche unter 0,0003 mg liegen. Interessant sind die bisherigen Versuchsergebnisse mit sehr zahlreichen Urinen, darunter auch solche mit hohen WOHLGEMUTH-Amylasewerten. Alle waren negativ. Stuhlextrakte zeigten mit der tyndallmetrischen Methode keinerlei Ausschläge. Bei den verschiedenen Punktionsflüssigkeiten traten zuweilen schwache Lipasewirkungen auf.

Versuche zum Nachweis und Bestimmung der Lipasewirkung in verschiedenen Pflanzenbestandteilen sind im Gange.

Um festzustellen, ob in den verschiedenen Körperflüssigkeiten eine sogenannte „Anti-Lipase" vorhanden ist, wurden in denselben bestimmte Mengen Lipasepräparate gelöst und dann die Lipasewirkung geprüft. Es konnten keinerlei Anhaltspunkte für die Existenz einer „Anti-Lipase" gefunden werden.

Die oben beschriebene tyndallmetrische Lipasebestimmungsmethode ermöglicht eine rasche und zuverlässige Ermittlung der Größe von Lipasewirkungen.

Micro-Determination of Acetyl.

By

A. J. Bailey and Rex J. Robinson.

University of Washington, Seattle, Wash., U. S. A.

(Eingelangt am 21. April 1934.)

Introduction.

Several methods have been recommended for this determination, all of which involve hydrolysis and distillation of the acetic acid. A. Freudenberg and E. Weber[1] hydrolyzed with alcoholic p-toluene sulfonic acid and then distilled and titrated the acetic acid. F. Pregl and A. Soltys[2] likewise determined the acetic acid acidimetrically, but hydrolyzed with aqueous p-toluene sulfonic acid and distilled the acetic acid under reduced pressure. A. Friedrich and S. Rapoport[3] made the hydrolysis and distillation in a manner similar to that of Pregl and Soltys, but titrated iodometrically. R. Kuhn and H. Roth[4] hydrolyzed with either normal alcoholic or aqueous NaOH distilled the alcohol, if used, while still alkaline acidified with sulfuric acid and distilled the acetic acid which was then titrated.

While these methods are fairly accurate, some require uncommon reagents, and all require special equipment to make the acetic acid distillation which is time consuming and often incurs loss. Therefore, it appeared feasible and especially advantageous, because of the extreme simplicity of apparatus, to attempt the adaption of the macro-method in which the excess alkali of the hydrolyzing solution is titrated.

---

[1] Ztschr. angew. Chem., **38**, 280 (1925).

[2] Mikrochemie, **VII**, 1 (1929).

[3] Biochem. Ztschr., **251**, 432 (1932).

[4] B., **66**, 1274 (1933).

Procedure.

After trying various unsatisfactory modifications, the following procedure was found to yield accurate results. A 5 to 10 mg. sample is weighed into a small porcelain boat and introduced into a 20 ml. Pyrex flask. Five ml. of N/25 aqueous NaOH are added to the flask, a micro-reflux condenser attached, and the solution boiled gently for 12 to 35 hours. The time required for complete hydrolysis depends largely upon the character of the acetyl linkage. It has been found that the acetyl-N linkage possesses greater stability than the acetyl-O. After hydrolysis is complete, any alkali adhering to the condenser and rubber stopper is washed into the flask and the excess alkali titrated with N 100 HCl using phenolphthalein as the indicator. A blank correction, as determined by a control experiment, is necessary.

Discussion of Results.

The following table shows the results obtained using this method of procedure.

Table I.

Substance	Sample-mg.	Per cent Acetyl		Error in %
		Theor.	Found	
acetanilide	8.621	31.85	31.73	0.12
	7.381		31.67	0.18
acetyl salicylic acid	11.254	23.89	23.83	0.06
	6.481		23.79	0.10
	5.502		23.74	0.15
acetyl toluidine	6.658	28.86	28.71	0.15
	7.720		28.68	0.18
phenacetin	6.707	24.02	23.92	0.10
	7.505		23.83	0.19
allylisopropylacetylcarbamide .	8.405	23.49	23.40	0.09
	7.883		23.29	0.20
acetaniside	7.631	26.06	26.00	0.06
	7.932		25.87	0.18

Preliminary analyses were made with N/100 and N/50 alkaline hydrolyzing solutions, but these were discarded in favor of the N/25 NaOH because of the greater velocity of hydrolysis. The latter gave results differing but little from the theoretical values. However, it will be observed that though the deviations listed in Table I are small, the observed percentages are all less than theory. Doubtless, hydrolysis is still incomplete even with the N/25 alkali. Although a greater concentration would undoubtedly offer a solution, this would be obviously impossible to attain and still maintain a micro-procedure. It was thought that the substitution of a solution of alkaline alcohol or acetone might result in a more complete hydrolysis in even less time. Unfortunately, the results were entirely unsatisfactory.

The blank correction for aqueous hydrolysis was found to vary with the concentration of the alkali and the period of time for refluxing. The usual correction with the procedure mentioned previously was 0,12 ml. of N/25 NaOH. This value, though appreciable, was very constant for equal periods of refluxing when using well leached flasks.

It was thought that over a prolonged period of hydrolysis sufficient carbon dioxide might be absorbed from the air by the alkaline solution to account, at least partially, for the blank correction. This effect was shown to be negligible, as a correction of the same magnitude resulted when the air entering the condenser was first freed from carbon dioxide by soda-lime. Needless to say, if the laboratory atmosphere contained considerable quantities of carbon dioxide, this precaution would be entirely necessary.

Table II has been compiled to show the relative accuracy of the several methods and needs no explanation.

While the proposed method requires a longer elapsed time than the older methods, the actual working time is shorter through the elimination of time-consuming distillation which in itself occasions certain unavoidable losses. Moreover, the simplicity of equipment and procedure offers distinct advantages.

Table II.

Deviation from Theoretical Percentage		
PREGL-SOLTYS	KUHN-ROTH	Proposed method
— 0,3	— 0,63	— 0,12
— 0,1	+ 0,25	— 0,18
— 0,3	+ 0,01	— 0,06
+ 0,1	— 0,26	— 0,10
— 0,3	+ 0,25	— 0,15
— 0,2	— 0,32	— 0,15
	— 0,70	— 0,18
	+ 0,09	— 0,10
		— 0,19
		— 0,09
		— 0,20
		— 0,06
		— 0,18
		— 0,13
Ave. 0,22	0,31	0,13

Summary.

1. A simple method is proposed for the micro-determination of acetyl in which the excess alkali of the hydrolyzing solution is titrated.

2. The method eliminates special equipment and the time consuming distillation with its unavoidable errors.

Note on the Use of Cerium Dioxide in the Determination of Carbon and Hydrogen by the Pregl Method.

By

Gertrude Ware Wellwood.

Contribution from the Converse Memorial Laboratory of Harvard University.

(Eingelangt am 30. April 1934.)

In their paper on the use of cerium dioxide as a contact substance in the quantitative micro-determination of carbon and hydrogen Paul Haas and Friedrich Rappaport[1] have discussed the earlier work of Julius Bekk[2], Marie Reimer[3], P. A. Levene and F. W. Bieber[4], H. L. Fisher and A. H. Wright[5] on the use of this catalyst in macro combustion and have applied the same principle to microanalysis, substituting for the mixture of lead chromate and cupric oxide in the "universal filling" of Pregl[6] sections of pumice and asbestos impregnated with cerium dioxide.

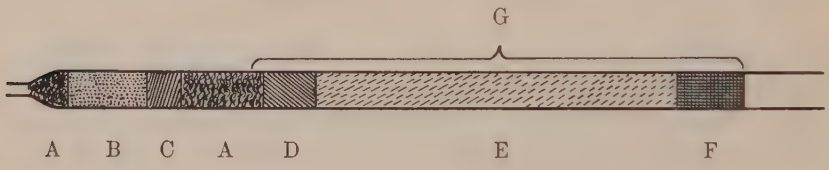
The review in Mikrochemie[7] of Lindenfeld's[8] modification of the Pregl method is the only other mention of cerium dioxide as a catalyst in microanalysis which has come to our attention. In this method there is introduced into the filled Pregl tube a boat (20 mm. in length) filled with pumice and cerium dioxide, and before the boat a small spiral of platinum foil which is heated by a special burner.

---

[1] Mikrochemie, **VII**, 327 (1929).
[2] B., **46**, 2574 (1913).
[3] Journ. Amer. Chem. Soc., **37**, 1636 (1915).
[4] Ibid., **40**, 460 (1918).
[5] Ibid., **40**, 868 (1918).
[6] Pregl F., Quantitative Organic Microanalysis. 2nd English Edition (1930).
[7] Mikrochemie, **IX**, 244 (1931).
[8] Rocrnilci chemji, **X**, 1, 84 (1930).

It is interesting to note that R. F. SCHULTZ[9] of this laboratory found cerium dioxide prepared by the FISHER method[5] a very efficient catalyst in the semi-micro analysis of branched-chain substances such as tert-butyl-di(diphenyl)-chloromethane. The experience led to the use of his catalyst in microanalysis by the PREGL method.

Since 1931 several hundred carbon and hydrogen determinations have been carried out with the following simple modification of the PREGL "universal filling"; the addition of a section of 15—20 mm. of pumice impregnated with cerium dioxide at the far end of the lead chromate — cupric oxide mixture, adjacent to the silver wire. This position is near the hottest part of the combustion tube and the chance of formation of explosive mixtures of gases with back



A = silver wire.
B = lead peroxide.
C = choke plug.
D = cerium dioxide in pumice.
E = lead chromate and cupric oxide.
F = platinum gauze roll.
G = section heated by electric furnace (175 mm).

pressure is eliminated. A platinum gauze roll, 20—25 mm. in length, is used[10] next to the boat instead of the silver wire. The tube filling is thus identical with the "universal filling" except for the addition of the two catalysts, cerium dioxide and platinum. It differs from the method of LINDENFELD[8] in the position of the cerium dioxide pumice and the omission of the boat. One hundred and fifty to two hundred combustions may be run without changing the tube filling. Ascarite and dehydrite are used for filling the absorption tubes. The tubes are wiped as usual with a moist cloth and then fanned with chamois. Pyrex absorption tubes are dischar-

[9] J. B. CONANT and R. F. SCHULTZ, Journ. Amer. Chem. Soc., **55**, 2098 (1933).
[10] G. LUNDE, Biochem. Ztschr., **176**, 158 (1926).

ged by touching the ends[11]. A uranium salt is kept in the balance case and constant weight is rapidly attained.

A simple electric furnace provided with a thermometer (previously calibrated by a thermocouple type pyrometer) is used instead of the long burner[12, 13, 14, 15]. The lead peroxide and the boat are heated as usual. About eight hours of preheating the combustion tube is usually sufficient.

A standard substance, acetanilide, or in some cases phylloporphyrin is run after disuse of the apparatus for some time and at the beginning of each day's series of analyses. This standard is usually low in hydrogen due to the preheating of the train, but correct for carbon. The second analysis is uniformly correct for both elements[14, 16]. Therefore only the carbon percentages are used in tabulating the deviation in Table I. The analyses selected for illustration are series of consecutive daily runs.

Among the various substances analyzed were the following:

Porphyrins and other chlorophyll derivatives.
Dipyrryl methane and dipyrryl methene derivatives.
Tetrapyrryl compounds.
Tertiary butyl fluorene.
1,4 (Triphenyl methyl) butane.
Tert-butyl-di(diphenyl)-chloromethane.
Hydrogenated diphenic acids.
Amino acids.
Ionone and compounds containing the ionone ring.
Lactones.
Substances containing Cl, Br, N, S, Fe, Ag, Cu, Zn, Ni.

---

[11] W. M. Sperry, Mikrochemie, **XII**, 151 (1933).

[12] The electric furnace was made by Dr. Post, Rockefeller Institute, New York.

[13] G. Kemmerer and L. T. Hallett, Ind. Eng. Chem., **19**, 173 (1927).

[14] P. L. Kirk and A. G. McCalla, Mikrochemie, **XII**, 87 (1933).

[15] B. Flaschenträger, Mikrochemie, **IX**, 15 (1931).

[16] A. Friedrich, Mikrochemie, **IX**, 23 (1931), Die Praxis der quantitativen organischen Mikroanalyse, 1933.

Summary.

The addition of a section of cerium dioxide in pumice to the "universal filling" of PREGL has given uniformly accurate results over a long period of carbon and hydrogen determinations. The tube filling may be used for about two hundred analyses without refilling and is ready for substances containing nitrogen, sulfur and halogens. The electric furnace in place of the long burner may contribute to the accuracy of the results.

Table I.

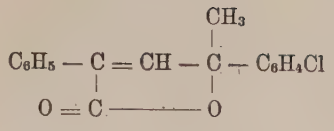
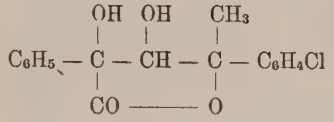
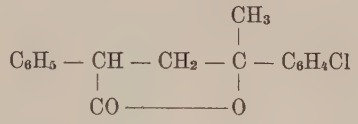
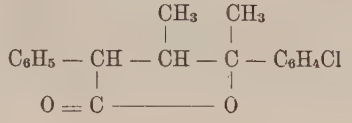
Acetanilide: % C = 71,07, % H = 6,72 (calc.).

Universal filling				Universal filling and cerium dioxide			
% H found	% C found	% C calc.	% C △	% H found	% C found	% C calc.	% C △
6,59	70,70	71,07	— 0,37	6,51	71,08	71,07	+ 0,01
6,18	71,38	71,07	+ 0,31	6,55	71,08	71,07	+ 0,01
6,04	71,00	71,07	— 0,07	6,40	70,99	71,07	— 0,08
6,25	71,24	71,07	+ 0,17	6,63	71,10	71,07	+ 0,03
6,20	71,37	71,07	+ 0,30	6,71	71,20	71,07	+ 0,13
6,52	71,27	71,07	+ 0,20	7,09	70,96	71,07	— 0,11
6,57	71,02	71,07	— 0,05	6,53	70,78	71,07	— 0,29
6,05	70,82	71,07	— 0,25	6,42	71,14	71,07	+ 0,07
6,26	70,92	71,07	— 0,15	6,38	71,18	71,07	+ 0,11
% H	% C	% C	% C	% H	% C	% C	% C

Phylloporphyrin: % C = 75.85, % H = 7,28 (calc.).

Universal filling				Universal filling and cerium dioxide			
found	found	calc.	△	found	found	calc.	△
7,58	75,37	75,85	— 0,48	6,97	75,60	75,85	— 0,25
7,53	75,56	75,85	— 0,29	7,22	75,71	75,85	— 0,14
7,70	75,69	75.85	— 0,16	7,36	75,75	75,85	— 0,10
7,38	75,57	75,85	— 0,28	6,84	75,53	75,85	— 0,32
7,41	76,09	75,85	+ 0,24	7,35	75,79	75,85	— 0,06
7,19	75,75	75,85	— 0,10	6,87	76,08	75,85	+ 0,23
7,69	75,95	75,85	+ 0,10	7,37	75,90	75,85	+ 0,05
7,79	76,00	75,85	+ 0,15	7,74	75,94	75,85	+ 0,09
7,65	75,82	75,85	— 0,03	7,51	76,10	75,85	+ 0,25

Table II.

Substance	Universal filling					Universal filling and cerium dioxide				
	% H		% C		% C	% H		% C		% C
	found	calc.	found	calc.	△	found	calc.	found	calc.	△
	4,73	4,57	71,07	71,70	— 0,63	5,00	4,57	71,87	71,70	+ 0,17
	4,78	4,57	71,57	71,70	— 0,13	4,60	4,57	71,47	71,70	— 0,23
	4,96	4,71	64,05	64,05	0,00	5,22	4,71	64,11	64,05	+ 0,06
	4,66	4,71	63,55	64,05	— 0,50	4,96	4,71	64,00	64,05	— 0,05
	5,58	5,24	71,28	71,20	+ 0,08	5,35	5,24	71,22	71,20	+ 0,02
	5,26	5,24	71,50	71,20	+ 0,30	5,26	5,24	71,35	71,20	+ 0,15
	5,67	5,68	71,59	71,65	— 0,06	5,72	5,68	71,67	71,65	+ 0,02
	6,03	5,68	71,66	71,65	+ 0,01	5,80	5,68	71,68	71,65	+ 0,03

Über einen Mikroschmelzpunktapparat mit am Apparat geeichtem Thermometer.

Von

Ludwig Kofler.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 3. Mai 1934.)

Vor einigen Jahren beschrieben L. Kofler und H. Hilbck[1] in diesem Archiv nach Besprechung der bisherigen Literatur einen neuen Mikroschmelzpunktapparat mit thermoelektrischer Temperaturmessung. Der Apparat wird im Innsbrucker Pharmakognostischen Institut seit mehreren Jahren benützt und hat sich beim mikrochemischen Arbeiten sehr gut bewährt.

Mit Hilfe der Mikroschmelzpunktbestimmung wurde z. B. bei einer Anzahl bekannter Substanzen das Vorhandensein von zwei oder mehreren Modifikationen erkannt, die dann durch kristalloptische Untersuchungen genauer charakterisiert werden konnten: p-Oxybenzoesäuremethylester (L. Kofler und A. Kofler[2]), Veronal (R. Fischer und A. Kofler[3]), Allylisopropylbarbitursäure (R. Fischer[4]), Phenacetin (R. Fischer und A. Kofler[5]), Adamsit (R. Fischer[6]), Atophan (L. Kofler und W. Dernbach[7]), Morphin (L. Kofler und A. Kofler[8]), α-Follikelhormon (A. Kofler und A. Hatschild[9]), Cumarin (A. Kofler und J. Geyr[10]). Bei einigen Substanzen wurde mit Hilfe des Mikroschmelzpunktapparates das Verhalten der kristallwasserhaltigen Kri-

[1] Mikrochemie, **IX**, 38 (1931).
[2] Mikrochemie, **IX**, 45 (1931).
[3] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 207 (1932).
[4] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 149 (1932).
[5] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 433 (1932).
[6] Mikrochemie, **XII**, 257 (1932).
[7] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 153 (1932).
[8] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **271**, 387 (1933).
[9] Mikrochemie, **XV**, 55 (1934).
[10] Mikrochemie, **XV**, 67 (1934).

stalle beim Erhitzen und die Umwandlung in die wasserfreien Kristalle aufgeklärt: Orthoform (A. KOFLER und A. MAYRHOFER[11]), Kodein (L. KOFLER und A. KOFLER[12]). L. KOFLER und W. DERNBACH[13] zeigten die Brauchbarkeit der Mikroschmelzpunktbestimmung bei der Untersuchung von Arzneimitteln. Die Mikroschmelzpunktbestimmung in Verbindung mit kristalloptischen Untersuchungen erwies sich auch beim Studium der im Veramon vorhandenen Molekülverbindung von Vorteil (A. KOFLER und R. FISCHER[14]). Die Kristalle in Mikrosublimaten aus pflanzlichen Drogen lassen sich durch die Mikroschmelzpunktbestimmung häufig in einfacher Weise identifizieren. Dabei erwiesen sich die Literaturangaben in manchen Fällen als unzutreffend; beispielsweise bestehen die Kristalle, die man aus Lichen islandicus gewinnt, nicht aus Lichesterinsäure, wie das Deutsche und das Schweizer Arzneibuch angeben, sondern aus Fumarsäure (L. KOFLER und H. RATZ[15]). Ebenso erwiesen sich durch die Nachprüfung auf dem Mikroschmelzpunktapparat die Angaben der Literatur und der neuen Schweizer Pharmakopoe über die Mikrosublimate aus Asa foetida zum Teil als unzutreffend (L. KOFLER und H. RATZ[16], L. KOFLER und A. KUTIAK[17]). Mikroschmelzpunktbestimmung in Verbindung mit der Mikrosublimation ermöglicht nach einem von FISCHER und Mitarbeitern beschriebenen Verfahren in einfacher Weise den Nachweis von Konservierungsmitteln in Lebensmitteln (R. FISCHER und F. STAUDER[17, 18, 19], R. FISCHER[20]) und den Nachweis von Schlafmitteln in Organen und Körperflüssigkeiten (R. FISCHER[21], R. FISCHER und A. HAUSCHILD[22]). Ferner bewährte sich die Mikroschmelzpunktbestimmung zur einfachen und sicheren mikrochemischen Unterscheidung von Lokalanästhetika (R. FISCHER[23]) und Aldehyden und Ketonen (R. FISCHER[24], R. FISCHER und A. MOOR[25]) und zu ihrem Nachweis in ätherischen Ölen und Drogen (R. FISCHER und A. MOOR[26]). Eine zusammenfassende Darstellung der Durchführung der Mikroschmelzpunktbestimmung siehe bei L. KOFLER[27].

---

[11] Mikrochemie, **X**, 460 (1931/32).
[12] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **272** (1934).
[13] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **269**, 104 (1931).
[14] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 441 (1932).
[15] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 338 (1932).
[16] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **269**, 689 (1931).
[17] Pharmaz. Monatshefte, **15**, 7 (1934).
[18] Mikrochemie, **VIII**, 330 (1930).
[19] Ztschr. f. Unters. d. Lebensmittel, **62**, 658 (1931).
[20] Ztschr. f. Unters. d. Lebensmittel, **67**, 161 (1933).
[21] Mikrochemie, **X**, 409 (1931/32).
[22] Pharmaz. Monatshefte, **15**, 64 (1934).
[23] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **271**, 466 (1933).
[24] Mikrochemie, **XIII**, 123 (1933).
[25] Mikrochemie, im Druck.
[26] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **272**, im Druck (1934).
[27] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 293 (1932).

Auf die Vorteile der Schmelzpunktbestimmung unter dem Mikroskop wurde von einzelnen Autoren schon früher (z. B. von V. GOLDSCHMIDT[28] im Jahre 1893) hingewiesen. Das Verfahren fand aber bisher nicht die verdiente allgemeine Anwendung, sondern wurde nur vereinzelt für besondere Zwecke benützt. Durch unsere oben erwähnten Veröffentlichungen stieg das Interesse für die Mikroschmelzpunktbestimmung, wie wir aus zahlreichen persönlichen Mitteilungen und Anfragen entnehmen können. Die Weiterverbreitung der Apparatur von L. KOFLER und H. HILBCK ist leider durch den hohen Preis des dazu erforderlichen Millivoltmeters eingeschränkt. Wir bemühten uns daher auf Grund der im Pharmakognostischen Institut gesammelten reichen Erfahrungen einen für praktische Zwecke brauchbaren Mikroschmelzpunktapparat mit Thermometermessung zu konstruieren, um die an sich vorteilhaftere, aber kostspielige thermoelektrische Messung zu umgehen. Die Form und die sonstige Einrichtung des Mikroschmelzpunktapparates wurde so belassen wie bei dem früher beschriebenen Apparat, nur wurde an Stelle des Thermoelements ein Thermometer angebracht.

Der neue Apparat besteht aus einer elektrisch heizbaren Metallplatte, in deren Mitte eine kleine Öffnung von 1.5 mm Durchmesser den Durchtritt des Lichtes ermöglicht. Gegen die umgebende Luft ist der Apparat durch einen an der Peripherie der Metallplatte angebrachten 6 mm hohen Metallring, auf den eine Glasplatte mit mattiertem Rand aufgelegt wird, geschützt. Zur Aufnahme des Thermometers dient eine seitlich an der Heizplatte angebrachte Bohrung von 6 cm Länge, in die ein Stabthermometer von durchwegs gleichmäßiger Dicke genau eingepaßt ist. Der herausragende Teil des Thermometers ist gegen Bruch durch eine oben offene Metallhülse geschützt, die seitlich an die Heizplatte angeschraubt wird. Der Apparat ruht auf drei Füßchen aus Fiber und wird mit Hilfe zweier verstellbarer Klemmschrauben auf dem Objekttisch eines Mikroskops oder Polarisationsmikroskops befestigt.

Die Substanz, deren Schmelzpunkt bestimmt werden soll, liegt auf der Heizplatte auf einem kurzen Objektträger und ist von

[28] Verh. d. naturw.-med. Ver. Heidelberg, N.F. 5, 2. Heft, 1893, zit. nach H. MEYER, Analyse u. Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. IV. Aufl., 1922.

einem Deckglas bedeckt. Infolge der den Schmelzpunktapparat nach oben abschließenden Glasplatte können für die mikroskopische Beobachtung nur Objektive mit einem freien Objektabstand von über 6 mm verwendet werden. Dabei sind 220fache (und durch Einfügen eines Tubusansatzes, z. B. Reichert Nr. 111.208, etwa 300fache) Vergrößerungen erreichbar, was vollständig genügt. Wir führen im Institut die Mikroschmelzpunktbestimmung in der Regel bei etwa 60facher Vergrößerung durch.

Die Schwierigkeit bei der Thermometermessung liegt darin, das Thermometer unter die gleichen Bedingungen zu bringen wie das zu schmelzende mikroskopische Präparat, so daß das Thermometer wirklich dieselbe Temperatur zeigt wie die Schmelzsubstanz. Bei Verwendung von fertigen Thermometern ist diese Voraussetzung unbedingt notwendig, aber nur schwer zu erreichen. G. KLEIN[29] eicht seinen Apparat dadurch, daß er zwischen die Heizplatte und die aufgeschraubte Metallhülse, welche die Quecksilberkugel des Thermometers umschließt, „eine bestimmte Anzahl von Metallblechplättchen zwischenschaltet, deren Dicke und Zahl für jeden Apparat verschieden ist und eichungsmäßig festgestellt wird". Auch DEININGER[30] spricht von einer Eichung seines Apparats; diese Eichung beschränkt sich aber nur auf die Feststellung, wie weit das Thermometer in den Heiztisch eingeschoben werden soll.

Nach zahlreichen Versuchen wurde nun gefunden, daß man einen wesentlich genauer arbeitenden Mikroschmelzpunktapparat herstellen kann, wenn man ein Thermometer ohne Temperaturskala heranzieht und die Temperaturskala auf dem Apparat festlegt. Zur Eichung des Thermometers schmilzt man auf dem Apparat Substanzen mit scharfem, genau bekanntem Schmelzpunkt. Die Stelle, an der sich das Ende des Quecksilberfadens im Augenblick des Schmelzens der Substanz befindet, wird auf dem Thermometer angestrichen. Hat man auf diese Weise eine genügende Anzahl von Temperaturmarken angebracht, so läßt man auf dem Thermometer durch Interpolation eine Temperaturskala anbringen, so wie auf jedem anderen Thermometer. Durch diesen Kunstgriff wird erreicht, daß das Thermometer genau die Temperatur anzeigt, die auf dem Objektträger, also an der

[29] Mikrochemie, PREGL-Festschrift, 192 (1929).

[30] Pharmaz. Zeitung, 78, 362 (1933).

Stelle herrscht, an der sich die zu schmelzende Substanz befindet. Ob die Temperatur in der Bohrung der Heizplatte und auf der Oberfläche des Objektträgers wirklich die gleiche ist oder nicht. ist bei dieser Art des Vorgehens belanglos[31].

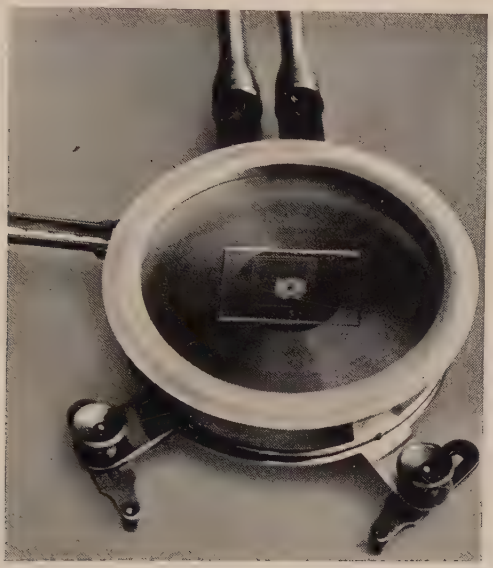
Durch die tiefe Versenkung des Thermometers in die Metallplatte wird ferner eine rasche Temperaturübertragung auf das Thermometer erreicht. Bei der beschriebenen Einrichtung kann der Temperaturanstieg auch im Bereich der Schmelztemperatur 4° pro Minute betragen, ohne die Genauigkeit der Bestimmung zu beeinträchtigen. Es wurde früher schon wiederholt betont, daß bei der Mikroschmelzpunktbestimmung die Möglichkeit, mit der Temperatur rasch anzusteigen, wegen der leichten Flüchtigkeit vieler Substanzen von großem Vorteil ist. Ein noch rascherer Temperaturanstieg ist allerdings, wie ebenfalls früher schon betont wurde, bei dem Apparat von KOFLER und HILBCK mit der thermoelektrischen Messung möglich.

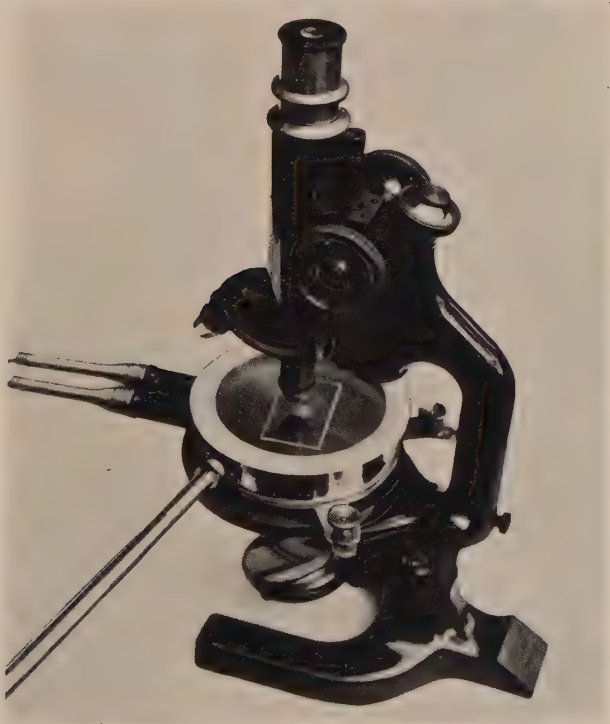
Man kann an dem Apparat ein einziges Thermometer. das den ganzen gewünschten Temperaturbereich umspannt. anbringen oder verkürzte Thermometer. Es hat sich uns als zweckmäßig erwiesen. zwei Thermometer herzustellen. das eine von 25 bis 200° und das andere von 190 bis 350°.

Der beschriebene Apparat eignet sich auch sehr gut für die Durchführung der Mikrosublimation unter dem Mikroskop, die von R. FISCHER in der nachstehenden Abhandlung ausführlich beschrieben ist.

[31] Der neue Mikroschmelzpunktapparat kann in geeichtem Zustand, komplett samt Heizwiderstand, zum Preise von 230 Schilling von Herrn SCHENNACH, Mechaniker am Physiologischen Universitätsinstitut Innsbruck, bezogen werden.

Ludwig Kofler, Über einen Mikroschmelzpunktapparat mit am Apparat geeichtem Thermometer.





Verlag **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig.**

Apparate und Methoden der Mikrosublimation.

Von

R. Fischer.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 3. Mai 1934.)

Die Mikrosublimation ist ein Arbeitsvorgang, bei welchem Sublimate auf dergestalten Unterlagen erzeugt werden, daß sie der mikroskopischen Betrachtung zugänglich sind. Es steht daher bei der Mikrosublimation die Herstellung der Sublimate auf einem hierzu geeigneten Apparat und die mikroskopische Betrachtung und Analyse in engem Zusammenhang. Die beiden Operationen, Sublimation und mikroskopische Betrachtung, wurden bisher meist getrennt durchgeführt, doch ist es in vielen Fällen, wie wir später sehen werden, zweckmäßig, beide Operationen gleichzeitig vorzunehmen.

Apparate zur Mikrosublimation.

Zur Durchführung der Sublimation sind eine große Zahl von Vorrichtungen beschrieben worden, von denen im folgenden die wichtigsten hervorgehoben seien. Man kann vor allem zwei Gruppen von Apparaten unterscheiden:

1. Sublimationsvorrichtungen ohne Messung der Temperatur.

Die Sublimation auf der Asbestplatte: Ein Objektträger, der das Sublimationsgut trägt, befindet sich auf einer von einer Gasflamme erwärmten Asbestplatte. Als Rezipient dient ein zweiter Objektträger. Der Sublimationsabstand, das ist die Distanz zwischen dem Sublimationsgut und dem Rezipienten, wird durch einen dazwischen-

liegenden Glasstab oder durch Glasstreifen verschiedener Dicke geregelt. Einen gewissen Fortschritt stellen die an Stelle der Glasstäbe verwendeten Glasringe dar, durch welche eine geschlossene Sublimationskammer (Gaskammer nach MOLISCH) gebildet wird. An Stelle der als Unterlage benutzten Objektträger werden auch Uhrgläser, eine Blechplatte mit aufgebogenem Rand mit aufgelötetem Metallring oder einem Viereck aus Metall verwendet. Diese und noch andere Vorrichtungen sind wohl zu orientierenden Versuchen geeignet und finden zum Teil in Arzneibüchern zur Durchführung der Mikrosublimation Anwendung, lassen jedoch infolge des Fehlens der Temperaturmessung ein exaktes Arbeiten vermissen.

2. Sublimationsvorrichtungen mit Messung der Temperatur.

a) Die Asbestschachtel nach O. TUNMANN[1]. Diese besteht aus zwei Asbestplatten und vier Asbeststreifen. Seitlich befindet sich ein Loch für das einzuführende Thermometer, oberseits ein Loch für ein breiteres Glasröhrchen, das, mit Material beschickt, knapp neben der Thermometerkugel ins Innere der Schachtel eingeführt wird. Die Öffnung des Glasrohres wird mit einem Deckglas verschlossen, auf dem das Sublimat aufgefangen wird.

b) Sublimationsvorrichtung nach L. ROSENTHALER[2]. Diese besteht aus einer Eprouvette, die mit Drogenpulver beschickt wird. Darüber liegt eine dünne Lage Asbestwolle. Ein unten abgeschliffenes Glasrohr reicht ins Innere der Eprouvette und trägt auf seiner Unterseite ein rundes Deckglas, Anschluß für Vakuum ist vorhanden. Die Eprouvette wird dann in irgendein Heizbad gebracht, dessen Temperatur gemessen wird.

c) Sublimationsapparat nach A. MAYERHOFER[3]. Dieser besteht aus einem mit Gas geheizten Kupferblock, auf dem zwei Glaszylinder, ein äußerer längerer und ein innerer kürzerer, stehen. Das Sublimationsgut befindet sich auf einer auf dem inneren Zylinder ruhenden Glasplatte. Durch eine zweite ebenso große Glasplatte mit ausgesparten Löchern wird der Sublimationsabstand gebildet. Auf

[1] Pflanzenmikrochemie, Berlin, Bornträger, **1931**, S. 25.
[2] Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **21**, 338, 525 (1911); **23**, 577 (1913).
[3] Mikrochemie der Arzneimittel und Gifte, **I** (1923).

die Aussparungen dieser Platte legt man das als Rezipient dienende Deckglas. Bedeckt wird das Ganze mit einer größeren Glasplatte, die auf dem äußeren Zylinder aufruht. Alle drei Platten sind dann noch durchbohrt zur Aufnahme des Thermometers, das von oben her eingeführt wird. Dieser Apparat dient auch zur Bestimmung des Schmelzpunktes dichter Sublimate.

d) Sublimationsvorrichtung nach G. JENNRICH[4]. Diese besteht aus einer rechteckigen Glasplatte mit aufgebogenem Rand; diese besitzt in der Mitte einen konischen Hohlzapfen aus Glas eingeschmolzen, der zur Aufnahme des Sublimationsgutes dient. Als Rezipient dient ein über die aufgebogenen Ränder gelegter Objektträger. Die Erhitzung erfolgt durch ein mit einem Thermometer versehenes Sandbad.

e) Sublimationsrohr nach R. EDER[5]. Ein etwa 2,5 cm breites Rohr, das sich am Grunde jäh verengt und spitz ausgezogen ist, an die tiefste Stelle bringt man die sublimierende Substanz. An der Oberseite besitzt das Rohr einen Schliff, auf den ein zweites Glasrohr paßt, das mit einem Tubus zur Einführung eines zweiten Thermometers zur Messung der Temperatur des Deckglases und zum Anschluß an die Vakuumpumpe versehen ist. Als Rezipient wird ein rundes Deckglas verwendet, das an der Verjüngung des Rohres unten aufliegt. Die Sublimation erfolgt durch Einsenken in ein Heizbad, dessen Temperatur gemessen wird.

f) Stufenrohr nach R. FISCHER[6]. Dieses besitzt im unteren Teil eine scharf abgesetzte Stufe, auf der das Deckglas während der Sublimation sich befindet. Zur Aufnahme des Sublimationsgutes ist eine Vertiefung mit ziemlich großer Oberfläche vorgesehen. Die besagte Apparatur eignet sich besonders zur Sublimation von Rückständen, die aus Extrakten nach deren tropfenweiser Verdunstung gewonnen wurden. Erwärmung erfolgt ebenfalls im Heizbad. Auch Vakuum ist anwendbar.

g) Apparat nach G. KLEIN und O. WERNER[7]. Dieser ähnelt in seinen wesentlichen Merkmalen dem EDER'schen Apparat, besitzt

[4] Beiträge zur Kenntnis der Chrysarobins. Dissertation, Hamburg 1924.

[5] Über die Mikrosublimation im luftverdünnten Raum. Dissertation, Zürich 1921, S. 5.

[6] Pharmaz. Monatsh., 8, 195 (1927).

[7] Ztschr. physiol. Chem., **143**, 143 (1925).

jedoch außerdem noch eine Kühlvorrichtung, die mit Hilfe eines Schliffes in das Sublimationsrohr von oben her eingeführt werden kann. Das Sublimationsrohr läuft entweder in seinem unteren Teil spitz zu oder ist unterseits gleichmäßig abgerundet. Im ersten Fall sublimiert man wie beim EDER'schen Apparat, im zweiten Fall wird der Boden des Rohres mit Eisenpulver bedeckt und ein Kupferschälchen aufgesetzt, das das Sublimationsgut trägt. Die Sublimationshöhe läßt sich durch die Menge des eingeführten Eisenpulvers regeln.

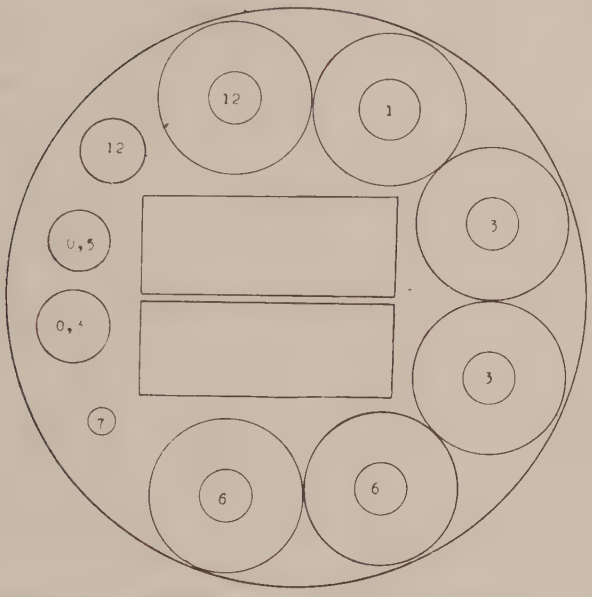
h) Sublimationsapparat von R. KEMPF[8]. Dieser besteht aus einer elektrisch geheizten ebenen Metallplatte mit seitlicher Bohrung für das Thermometer. Die Heizdose ist mit automatischer Temperaturregelung ausgestattet. Diese erlaubt, was bei der Apparatur wesentlich ist, längere Zeit, auch mehrere Tage hindurch, bei einer bestimmten, meist relativ niedrigen Temperatur zu sublimieren. Der Sublimationsabstand ist meist gering, von einem Zehntelmillimeter aufwärts, und wird durch Masken aus Asbestpapier gebildet. Als Rezipient dient dann ein Objektträger. Diese Art der Sublimation hat sich für bestimmte Fragestellungen gut bewährt.

i) Sublimationsapparat nach R. FISCHER[9]. Das wesentliche Merkmal dieses Apparats ist eine durch irgendeine Wärmequelle heizbare Messingplatte von etwa 15 cm Durchmesser und 13 mm Dicke, die seitlich eine tiefe Bohrung zur Einführung eines Thermometers besitzt. Oberseits befindet sich auf der Platte eine Anzahl von runden Löchern verschiedener Tiefe mit verschiedenen Durchmessern. Am günstigsten hat sich folgende Anordnung bewährt (siehe Abb. 1, Fig. A): 2 Löcher von 6 mm Tiefe und 4 cm Breite, der Rand des Loches besitzt eine Stufe von 1 mm Breite und $^1/_3$ mm Tiefe. 2 Löcher von 3 mm Tiefe und 14 cm Breite, auch mit einer Stufe versehen. Ein Loch von 1 mm Tiefe und 16 mm Breite mit einer Stufe von $1^1/_2$ mm Breite und $^1/_3$ mm Tiefe. Ein Loch mit 12 mm Tiefe und 14 mm Breite, ebenfalls mit Stufe. Um die genannten Löcher ist jeweils eine 1 bis 1,4 cm breite, ringförmige Partie besonders plangeschliffen und dient zum Aufsetzen von Vakuumglocken. Der Durchmesser der plangeschliffenen Partie beträgt in jedem Fall 4 cm. Diese Vakuumglocken passen genau auf die

[8] Ztschr. analyt. Chem., **62**, 284 (1923).

[9] Mikrochemie, **X**, 409 (1932).

Fig. A.



Heizplatte des Mikrosublimationsapparats, von oben gesehen, die Hälfte der natürlichen Größe. Die Zahlen in den kleinen Kreisen bezeichnen die Tiefe der Löcher in Millimetern. Die großen Kreise stellen die Grenzen der für die Vakuumglocken fein geschliffenen Partien der ebenen Platte, die beiden Rechtecke die für die Objektträger vorgesehenen Plätze dar.

Schliffe und werden bei erstmaligem Gebrauch mit Bimssteinpulver eingeschliffen. Es kann auch hierzu eine Paste verwendet werden, die zum Schleifen von Rasierklingen verwendet wird. Zum Versuch wird die Glocke ohne eine Spur von Fett aufgesetzt und hält trotzdem vakuumdicht. Anwendung von irgendwelchen Fetten bringt sonst häufig eine Verschmutzung der Sublimate mit sich. Außerdem besitzt die Platte oberseits noch zwei tiefe Löcher, eines von 12 mm Tiefe und 17 mm Breite und das andere von 7 mm Tiefe und 7 mm Breite. Ferner sind noch zwei flache, $^1/_3$ mm und $^1/_2$ mm messende Vertiefungen von 16, bezw. 19 mm Durchmesser angebracht. In der Mitte bleibt auf diese Weise ein Teil der Platte frei von Löchern und ist völlig eben, so daß bequem zwei Objektträger nebeneinander Platz finden. Zur Vervollständigung der Apparatur benötigt man noch, abgesehen von einem Stativ mit Klammern zur Befestigung der Vakuumglocken und Kühler, Asbestplatten ver-

schiedener Dicke und Größe, bezw. mit Ausschnitten versehene, die jeweils ein oder mehrere Löcher zu bedecken oder frei zu lassen erlauben. In die Vertiefungen von über 3 mm und 6 mm werden entsprechende Glasschälchen eingesetzt, die genau in die Vertiefungen passen und nie über das Niveau der Platte herausragen. Als Rezipienten für die Sublimate finden runde Deckgläser Anwendung, und zwar solche von einem Durchmesser von 15, 18 und 20 mm und einer Dicke von zirka 0,22 mm, die im Handel mit „a" bezeichnet werden. Es wurde mit Absicht diese Deckglasstärke gewählt, da die sonst üblichen dünneren viel zu leicht zerbrechen. Die Löcher in der Metallplatte sind so beschaffen, daß eine der drei Deckglasgrößen bequem auf der Stufe am Rande des Loches aufsitzt. Es können jedoch auch ohne weiteres, falls kein Vakuum verwendet wird, quadratische Deckgläser und auch Objektträger — mit Rücksicht auf die dann durchzuführende Mikroschmelzpunktbestimmung gebraucht man besser halbierte (zirka 24×38 mm) — zum Auffangen des Sublimats angewendet werden. Ferner werden Glasringe verschiedener Höhe und verschiedenen äußeren Durchmessers (15, 18, 20 mm) benötigt. Als Einsatz für die tiefen Löcher können nach Bedarf abgeschnittene Eprouvetten oder Mikrobecher dienen. Die auf dem ebenen Teil der Platte aufzulegenden Objektträger besitzen einen $^1/_5$ bis $^1/_2$ mm dicken und etwa 2 bis 3 mm breiten Glasstreifen ringsherum aufgekittet. Bedeckt man nun diese Objektträger mit einem zweiten gleich großen, dann entsteht eine Sublimationskammer von $^1/_5$ bis $^1/_2$ mm Höhe. Zur Wärmeisolation werden dieselben wie beim KEMPF'schen Apparat mit dicken Asbestplatten, zur Kühlung mit einem Kühler aus Glas oder Metall bedeckt.

Die Erhitzung der Platte kann, wie schon erwähnt, in verschiedener Weise erfolgen, beispielsweise auch mit Gas. Günstiger ist natürlicherweise die Anwendung des elektrischen Stromes. Am einfachsten ist es, wenn man die besagte Platte auf eine käufliche Kochplatte auflegt, mit zwei Schrauben fixiert und einen Widerstand dazwischenschaltet. Auf diese Weise lassen sich die meisten Arbeiten durchführen, ausgenommen diejenigen, bei welchen die Einhaltung einer bestimmten Temperatur durch Tage hindurch erforderlich ist. In diesem Falle ist irgendeine automatische Temperaturregulierung, wie sie der KEMPF'sche Apparat besitzt, nötig.

Bei den pharmakognostischen Übungen und im mikrochemischen Praktikum, wo es sich darum handelt, jedem Studenten eine einfache Sublimationsvorrichtung mit Temperaturmessung in die Hand zu geben, hat sich ein kleiner Sublimationsblock bewährt, der mit einem Mikrobrenner erhitzt wird. Der Block hat einen Durchmesser von 5 cm und eine Dicke von 0,9 bis 1,0 cm und besitzt auf der Oberseite zwei Vertiefungen mit je 14 mm Durchmesser und 3, bezw. 6 mm Tiefe, die nicht in der Mitte des Blocks, sondern am Rande sich befinden, so daß die restliche ebene Oberfläche des Blocks das Auflegen eines halbierten Objektträgers gerade noch erlaubt. Eine zirka 3,0 cm tiefe, horizontale, tangential verlaufende Bohrung für das Thermometer ist seitlich am Block angebracht, und ist so geführt, daß die Quecksilberkugel ungefähr unter die Mitte der eben geschliffenen Fläche des Blocks zu liegen kommt. In die Vertiefungen passen die beiden oben genannten Mikroschälchen. Mit dieser Vorrichtung kann die Sublimation aus Drogen sowie auch aus Extrakten einwandfrei durchgeführt werden.

Eine automatische Temperaturregelung konnte ich bei der großen Sublimationsplatte in folgender Weise erreichen: In der Heizdose unterhalb der großen Platte befinden sich zwei getrennt voneinander arbeitende Heizspulen. Die eine Spule hat die Aufgabe, den Apparat bis etwa 20° unterhalb der gewünschten Temperatur zu erwärmen. Jedoch keineswegs höher. Die zweite Spule besorgt die Erwärmung bis zum gewünschten Punkt und ist gesteuert. Die Steuerung besorgt ein zwischen Heizdose und Platte befindliches, mit ausgekochtem Quecksilber gefülltes flaches Glasgefäß, an das eine rechtwinkelig gebogene Kapillare angeschmolzen ist. Am Knie der Kapillare ist ein Platindraht eingeschmolzen. Von oben herein reicht in die Kapillare ein verschiebbarer Draht, der, mit der Kuppe des Quecksilbers in Berührung gebracht, durch eine entsprechende Schaltung mit Hilfe eines Relais die Stromunterbrechung in der gesteuerten Spule bewirkt. Zur Abschwächung des beim Unterbrechen und Schließen des Stromes entstehenden Funkens ist außerdem noch ein kleiner Transformator angeschlossen. Das Volumen des Quecksilbergefäßes und der Durchmesser der Kapillare müssen in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen, so daß dem Ansteigen der Quecksilbersäule um 1 mm im Durchschnitt eine Temperaturzunahme von etwa 3° entspricht. Der Draht muß also in der etwa 12 cm langen

Kapillare 9 bis 10 cm verschiebbar sein, wenn ein Temperaturbereich von 20 bis 300° umfaßt werden soll. Sollte sich auf der Quecksilberkuppe in der Kapillare bei längerem Betrieb ein Oxydhäutchen gebildet haben, dann entfernt man den Draht und wischt die Kapillare mit einem alkoholfeuchten Wattebäuschchen aus. Der in die Kapillare reichende Draht oder die dazu verwendete Verschiebungsvorrichtung ist entweder in Millimeter oder nach der Eichung in Temperaturgrade eingeteilt. Soll nun der Apparat bei einer bestimmten Temperatur arbeiten, dann stellt man vorerst die Widerstände ein, und zwar den nichtgesteuerten derart, daß die gewünschte Temperatur auf keinen Fall erreicht werden kann (durch Feststellen einiger Punkte läßt sich die Stellung des Widerstandes nach wenigen Versuchen leicht ermitteln). Den Widerstand der gesteuerten Spule, der naturgemäß gleich lang ist wie der der nichtgesteuerten, stellt man so ein, daß etwas mehr Strom durch jene Spule geht. Schließlich wird der Draht in der Kapillare in die richtige, durch Eichen bestimmte Stellung gebracht. Zur Eichung des Widerstandes und der Kontaktverschiebung in der Kapillare genügen 10 Fixpunkte, nach welchen dann die genaue Einteilung durch Interpolation gefunden werden kann.

Der eben beschriebene Apparat vermag nun alle verschiedenen Möglichkeiten zu erschöpfen, die bisher bei der Konstruktion von Sublimationsvorrichtungen maßgebend waren:

1. Die Messung der Temperatur erfolgt einwandfrei durch das in einer Bohrung der Platte befindliche Thermometer.

2. Die Sublimationshöhe läßt sich variieren von 0,1 mm bis 10 mm und darüber hinaus durch Aufsetzen entsprechender Glasringe.

3. Flüssigkeiten, deren Rückstand der Sublimation unterworfen werden soll, können in den eingesetzten Glasschälchen tropfenweise mit Hilfe von Augentropfen oder kleinen Scheidetrichtern mit kurzem, zu einer Spitze ausgezogenem Ablaufrohr verdunstet werden. Infolge der allseitigen Erwärmung des Schälchens steigt der Rückstand der abgetropften Flüssigkeit selten über den Rand des Schälchens, und da das Deckglas nicht direkt auf das Schälchen aufgelegt wird, entfällt auch bei etwaigem Übersteigen des zu sublimierenden Materials die Verschmutzung des Deckglases am Rande.

4. Es kann im Vakuum gearbeitet werden, und zwar mit allen

beliebigen Sublimationsabständen, da die Glasringe noch in die hohen Vakuumglocken passen. Auch die Sublimation im Vakuum mit Kühlung läßt sich mit einer entsprechend konstruierten Glocke leicht durchführen. Durch Auflegen eines Glas- oder Asbestblättchens kann die Temperatur des Rezipienten erhöht werden und dadurch das Temperaturgefälle erniedrigt, was in manchen Fällen vielleicht günstig erscheint.

Einen großen Vorteil besitzt dieser Apparat noch gegenüber den anderen mit Vakuum arbeitenden Apparaten. Das Wechseln des Deckglases bei der Sublimation im Vakuum läßt sich nach Abnahme der Vakuumglocke im Augenblick durchführen, während dieser Vorgang bei den früheren Apparaten immer etwas umständlich ist.

5. Um auch größere Drogenmengen der Sublimation unterwerfen zu können, ist ein 12 mm tiefes und 16 mm breites Loch in der Platte angebracht.

Durch die Anordnung und die Anzahl der Löcher auf der Platte, und zwar je 2 mit 3, 6 und 12 mm Tiefe, ist die Möglichkeit gegeben, vergleichende Untersuchungen unter denselben Versuchsbedingungen durchzuführen. Durch die Verwendung einer Metallplatte und die einwandfreie Temperaturmessung ist die Gewähr dafür gegeben, daß jedesmal streng reproduzierbare Werte, d. h. bei ein und denselben Versuchsbedingungen immer dieselben Sublimate erhalten werden, was besonders bei toxikologischen Untersuchungen von Wichtigkeit ist.

Wie bei allen in der Literatur bekannten Sublimationsapparaten ist es auch bei diesem notwendig, nach vollzogener Sublimation das Deckglas abzunehmen und unter dem Mikroskop zu betrachten. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, den Großteil der eben erwähnten verschiedenartigen Sublimationsmethoden unter dem Mikroskop selbst auszuführen. Benötigt wird hierzu in erster Linie ein Mikroschmelzpunktapparat. Ein solcher, sei er nun mit Thermoelement, bezw. Millivoltmeterablesung (L. Kofler und H. Hilbck[10]) oder mit Thermometerablesung (L. Kofler, vorstehende Mitteilung) ausgestattet, gehört heutzutage schon zur Errichtung eines mikrochemischen Laboratoriums. Über die Durchführung der Mikroschmelzpunktbestimmung siehe L. Kofler[11]. Zur

[10] Mikrochemie, **IX**, 38 (1931).

[11] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 293 (1932).

Identifizierung der bei der Sublimation erhaltenen Kristalle ist die Bestimmung des Mikroschmelzpunktes am wichtigsten. Außerdem können noch die optischen Eigenschaften der Kristalle und die chemischen Reaktionen herangezogen werden.

Die Sublimation unter dem Mikroskop.

Auf einem Mikroschmelzpunktapparat läßt sich ohne weitere Zutaten in einfacher Weise die Mikrosublimation durchführen. Gegenüber der Mikrosublimation auf der Asbestplatte hat man dabei den Vorteil einer genauen Temperaturmessung und gegenüber allen oben beschriebenen Verfahren den Vorteil ständiger mikroskopischer Beobachtungsmöglichkeit des Sublimationsvorganges. Die fortlaufende mikroskopische Betrachtung während der Sublimation ist in vielen Fällen von größtem Nutzen. Bei der Prüfung eines Untersuchungsmaterials auf das Vorhandensein irgendeiner sublimierbaren Substanz geht man bei jeder Art der Mikrosublimation so vor, daß man die Temperatur langsam steigert, bis sich auf dem Rezipienten ein Sublimat zeigt, und dann bei dieser Temperatur stehenbleibt, um eine reichlichere und bessere Ausbildung des Sublimats zu erreichen. Beim Arbeiten ohne mikroskopische Betrachtung besteht die Gefahr, daß man die Entstehung eines spärlichen Sublimats oder einzelner Kristalle übersieht und infolgedessen die Temperatur weiter ansteigen läßt, wobei das schon gebildete Sublimat sich verflüchtigt.

Die Sublimation auf dem Mikroschmelzpunktapparat kann auf einem Objektträger in derselben Weise wie auf der Asbestplatte vorgenommen werden. Als Rezipient dient ein Deckglas, das von Glasstreifen beliebiger Dicke oder von einem Glasring getragen wird. Eine geschlossene niedere Sublimationskammer läßt sich auch durch Auflegen eines Glasplättchens von 0,2 bis 0,5 mm Dicke bewerkstelligen, das in der Mitte ein Loch von 15 oder 18 mm Durchmesser ausgeschnitten hat. Man legt dann einfach ein zweites größeres Deckglas darüber und erhält auf diese Weise eine niedrige Sublimationskammer. Diese Vorrichtung bewährt sich besonders beim „Umsublimieren".

Unter „Umsublimieren" versteht man die nochmalige Sublimation eines erhaltenen, aus irgendeinem Grunde nicht entsprechenden Sublimats. Das Umsublimieren führt man meist bei geringem Ab-

stand (0,2 bis 0,5 mm) durch. In vielen Fällen handelt es sich darum, ein Sublimat zu reinigen. Dabei ist natürlich die Wahl der richtigen Temperatur und die sogenannte fraktionierte Sublimation von großer Wichtigkeit. Infolge des geringen Abstandes muß die Temperatur herabgesetzt werden und darf das Deckglas nicht vorher, sondern nur in dem als günstig befundenen Temperaturbereich aufgelegt werden, da beim vorzeitigen Auflegen des Deckglases Verunreinigungen, die sich sonst verflüchtigen, wieder im Sublimat aufscheinen würden. Man sucht eben nur diesen Temperaturbereich einzuhalten, bei dem die Substanz leicht sublimiert und möglichst wenig von den Verunreinigungen mitsublimiert. Einen sehr praktischen Behelf zum Umsublimieren stellen die eben erwähnten Glasplättchen mit ausgeschnittener runder Öffnung dar. Das Deckglas wird mit dem Sublimat nach oben auf die Heizplatte gelegt, dann das Glasplättchen mit dem entsprechenden Ausschnitt und schließlich ein Deckglas auf die Öffnung.

Auch die Mikroschälchen können an Stelle der Ringe zur Sublimation verwendet werden. Es sind also alle Möglichkeiten der Sublimation durchführbar, die auf den ebenen Teil der großen Heizplatte angestellt werden können.

Für die Sublimation im Vakuum unter dem Mikroskop dient eine Mikrovakuumglocke, die aus einer quadratischen Glasplatte von 3 bis 4 cm Seitenlänge und einer aufgeschliffenen Glasglocke besteht (L. Kofler und W. Dernbach[12]). Die Höhe der Glocke beträgt 6 mm. Die obere Wand muß planparallel und parallel zur unteren Glasplatte sein, damit das mikroskopische Bild nicht verzerrt wird. Seitlich an der Glocke ist ein Glasröhrchen zum Anschluß an den Vakuumschlauch angesetzt. Das Sublimationsgut wird auf die Glasplatte aufgelegt, darüber kommt, getragen von Glasstreifen oder einem Glasring, ein Deckglas als Vorlage. Das ganze Präparat wird nach Einfetten des Schliffes mit der Vakuumglocke bedeckt, auf den Heiztisch aufgesetzt und evakuiert. Man kann auf diese Weise unter fortlaufender mikroskopischer Beobachtung bei bestimmter Temperatur im Vakuum sublimieren.

Wesentlich verbessert wird die Verwendungsmöglichkeit des Mikroschmelzpunktapparats für die Sublimation, wenn man einen Sublimationsblock auf die Platte auflegt (siehe Abb. 1). Dieser

[12] Mikrochemie, **IX**, 345 (1931).

Block besitzt einen Durchmesser von 4 cm, kann in verschiedener Dicke angefertigt und mit entsprechend tiefen Löchern versehen werden, in der Weise, wie es bei der oben erwähnten großen Sublimationsplatte der Fall ist. Außerdem befindet sich am Grunde des Loches genau in der Mitte eines solchen Blocks eine durchgehende, 2 mm breite Bohrung, die auf der Unterseite mit einem eingekitteten dünnen Glasplättchen verschlossen ist. Diese Öffnung erlaubt den Durchtritt des Lichtes nach dem Auflegen auf die Mitte des Mikroschmelzpunktapparats. Das Glasplättchen dient als Abschluß für die Durchführung der Vakuumsublimation. Mit Hilfe dieses Blocks können also auf dem Mikroschmelzpunktapparat unter fortlaufender mikroskopischer Beobachtung prinzipiell alle Arten der Sublimation durchgeführt werden, wie auf der oben beschriebenen großen Platte. Für die meisten Versuche wird man mit Sublimationsblöcken folgender Maße das Auslangen finden (Durchmesser in jedem Falle 4 cm):

1. 3 mm dick, Ausdehnung 1 mm tief mit 16 mm Durchmesser;
2. 5 mm dick, Loch 3 mm tief, 14 mm im Durchmesser, mit Bohrung für den Lichtdurchtritt und Glasplättchen auf der Unterseite;
3. 9 mm dick, Loch 6 mm tief und 14 mm im Durchmesser, Bohrung für den Lichtdurchtritt und Glasplättchen;
4. 13 mm dick, Loch 12 mm tief und 17 mm im Durchmesser, ohne oder mit Bohrung für den Lichtdurchtritt.

Block Nr. 4 dient hauptsächlich zur Sublimation größerer Drogenmengen und ist deshalb auch die Öffnung für den Lichtdurchtritt nicht unbedingt nötig. Die Beobachtung des Sublimats erfolgt dann ebenso wie bei Block Nr. 1 durch Auflicht, was sich mit Hilfe eines Hohlspiegels, besser jedoch mit einer Punktlampe oder einer Epilumeinrichtung leicht bewerkstelligen läßt. Kleinere Drogenmengen lassen sich auf dem Block Nr. 3 im Schälchen der Sublimation unterwerfen. Es können jedoch auch Blöcke mit kleineren oder größeren Vertiefungen, je nach Bedarf, Anwendung finden. Es lassen sich mit Hilfe dieser Vorrichtung durchführen:

1. Die Sublimation bei mikroskopischer Beobachtung und Atmosphärendruck mit verschiedenem Abstand, wobei vor der Durchführung der Sublimation irgendein die Substanz enthaltender Extrakt im Mikroschälchen verdunstet werden kann. Die Kühlung kann erfolgen mit Hilfe durchlochter Filtrierpapierscheibchen von

14 mm äußerem Durchmesser, die mit Wasser oder Alkohol befeuchtet werden. Sollte aus Reinlichkeitsgründen ein Glaskühler mit laufendem Wasser benötigt werden, dann wird der Mikroskoptubus samt Zahnstange entfernt, und man verzichtet in diesem Falle auf die mikroskopische Beobachtung.

2. Die Sublimation im Vakuum mit Hilfe der oben erwähnten Mikrovakuumglocke, die unmittelbar auf den Sublimationsblock aufgeschliffen werden kann (siehe Abb. 2). Abb. 2 zeigt einen Mikroschmelzpunktapparat mit Thermometerablesung, aufgelegtem Block und Vakuumglocke. In diesem Falle ist auch die Vakuumsublimation unter Beobachtung durchführbar. Soll endlich mit Vakuum und Kühlung gearbeitet werden, dann entfernt man wieder den Mikroskoptubus und setzt die Vakuumglocke mit eingeschliffenem Wasserkühler auf und verzichtet auf die Beobachtung. Eine solche Vakuumglocke mit Kühlung, aufgesetzt auf einen Block, zeigt Abb. 3 rechts. Bei der Vakuumsublimation kann der Abstand variiert werden, indem man verschieden dicke Blöcke mit entsprechenden Löchern und Schälchen verwendet. Benötigt man einen größeren Abstand, dann setzt man zuerst einen Glasring auf, legt auf diesen erst das Deckglas und verwendet die normale hohe Vakuumglocke ohne planparallele Platte wie in Abb. 3 links. Eine Fixierung des Blocks auf dem Mikroschmelzpunktapparat durch eine kleine Schraube ist bei der Durchführung der Vakuumsublimation ganz zweckmäßig, um ein Kippen des Blocks zu vermeiden. Fig. B zeigt einen Schnitt durch einen solchen Blok mit Fixierungsvorrichtung. Die Temperatur des Rezipienten kann, wenn es einmal notwendig sein sollte, durch eine tubulierte Vakuumglocke mit Hilfe eines Thermometers oder Thermoelements gemessen werden (siehe Abb. 4). Das Einhalten einer bestimmten Temperatur auf kürzere

Fig. B.

Schnitt durch den Sublimationsblock, natürliche Größe. Die Vertiefung im Block samt Glasschälchen, darunter die Bohrung für den Lichtdurchtritt und das vakuumdicht schließende, eingekittete Glasplättchen sichtbar. Rechts der Arm zur Fixierung auf der Heizplatte des Mikroschmelzpunktes.

Zeit ist auch hier leicht möglich, wenn man den Apparat von Zeit zu Zeit kontrolliert. Schwankungen im Lichtnetz machen sich naturgemäß bemerkbar, und es ist eine automatische Temperaturregulierung kaum zu vermeiden, wenn man nach KEMPF'schem Muster tagelang sublimieren will. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die Möglichkeit besteht, auch auf einen Mikroschmelzpunktapparat eine Vorrichtung zur Innehaltung einer bestimmten Temperatur anzubringen.

Bei der Durchführung der Sublimation auf dem Schmelzpunktapparat kann bei Verwendung niedriger Blocks Nr. 1 und 2 die Glasscheibe noch aufgelegt werden. Verwendet man jedoch dickere Blocks, dann empfiehlt sich eine durchlochte Glasscheibe, in deren Öffnung gerade der Block hineinpaßt (siehe Abb. 1 und 2). Eine über den Block gestülpte, nicht zu hohe Petrischale ist zuweilen zweckmäßig, da eine gewisse Wärmeisolation in manchen Fällen von Vorteil sein kann. Die Temperatur des Blocks ist bis etwa 200° praktisch identisch mit den auf dem Thermometer oder dem Millivoltmeter abgelesenen Graden. Bei höheren Temperaturen macht sich maximal ein Fehler von 2 bis 3° bemerkbar. der bei der Ermittlung der Sublimationstemperatur wohl keine Rolle spielt.

Diese Art der Mikrosublimation, wobei Mikroschmelzpunktapparat, Block und Vakuumglocke, ferner Mikroschälchen und Glasringe Verwendung finden, läßt sich mit Erfolg auch zu Vorlesungsversuchen für ein mikrochemisches Praktikum verwerten. Mit Hilfe dieser Apparatur und einer entsprechend starken Lichtquelle lassen sich eine große Anzahl von Mikrosublimationsversuchen projizieren, wobei das Entstehen der für eine bestimmte Versuchsanordnung charakteristischen Kristalle verfolgt und die Wirkung einer Änderung der Versuchsbedingungen in deutlicher Weise demonstriert werden kann. Es läßt sich z. B. die Einwirkung verschiedener Abstände und verschiedener Temperaturgefälle zum Rezipienten durch Kühlung mit durchlochten, befeuchteten Filtrierpapierscheibchen zeigen. Besonders eindrucksvoll ist die Sublimation im Vakuum, die sich innerhalb weniger Sekunden durchführen läßt, indem man eine flache Mikrovakuumglocke mit planparalleler Wand, die mit einer evakuierten Manometerflasche in Verbindung steht, aufsetzt. Wesentlich ist naturgemäß die richtige Auswahl der zu sublimierenden Stoffe. Ausführlich soll darüber an anderer Stelle berichtet werden.

Durchführung der Sublimation.

Die Durchführung der Sublimation, so einfach sie in manchen Fällen aussieht, kann unter Umständen erhebliche Schwierigkeiten bereiten, wenn nämlich die Sublimate schlecht kristallisieren, Verunreinigungen mitsublimieren oder ganz bestimmte Kristalle erhalten werden sollen. Besonders schwierig ist die Erzielung bestimmter Kristallformen im Sublimat, wie sie bei der kristallographischen Untersuchung polymorpher Substanzen benötigt werden. Die Schwierigkeit liegt bei der Sublimation vor allem darin, daß eben bei verschiedenen Anlässen sehr verschiedene Anforderungen gestellt werden.

Im folgenden seien die Umstände, unter denen die Sublimation auf den zur Verfügung stehenden Apparaturen durchgeführt werden kann, und die Wirkungen erörtert, die sich durch Änderung der hier in Betracht kommenden Faktoren ergeben. Vorerst seien die in der Apparatur selbst verankerten Möglichkeiten besprochen.

1. Sublimationstemperatur und Sublimationsabstand. Die Sublimationstemperatur der Substanzen ist außerordentlich stark abhängig von der gerade verwendeten Apparatur, worauf schon öfter hingewiesen wurde, und man stößt besonders dann auf Schwierigkeiten, wenn es sich um Vergleich von Literaturangaben handelte. Die Temperaturwerte sind nämlich nur vergleichbar, wenn die Vorrichtung und die Art der Sublimation vollkommen identisch sind. Es gibt nun Substanzen, die in einem großen Temperaturbereich kristallisierte Sublimate liefern, andere wieder geben nur unter ganz bestimmten, streng umschriebenen Bedingungen Kristalle. Letztere sind naturgemäß schwieriger zu behandeln und sind von ihnen auch schwieriger bestimmte Kristallformen herzustellen, da hier der Faktor Temperatur am wenigsten variiert werden kann. Die Sublimationstemperatur und der Sublimationsabstand sind zwei Faktoren, die sich in beliebiger Weise miteinander kombinieren lassen, und, wie allgemein bekannt, in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis stehen. Steigert man die Temperatur, dann erhöht sich der Dampfdruck und damit auch die Steighöhe der Dämpfe, so kann auch der Sublimationsabstand, sofern man von einer Kühlung absieht, vergrößert werden. Senkt man die Temperatur, dann muß

auch der Sublimationsabstand verringert werden. Verändert werden die Verhältnisse dann, wenn im Vakuum sublimiert wird, worauf später eingegangen wird. Es lassen sich auf diese Weise, wie KEMPF auf seinem Apparat gezeigt hat, durch besonders niedrige Sublimationsabstände und lang dauernde Sublimation auch bei niedriger Temperatur Sublimate gewinnnen. Eine Überhitzung des Rezipienten ist natürlicherweise im allgemeinen nicht günstig, obwohl gerade hier bei diesen niedrigen Abständen ein sehr geringes Temperaturgefälle vom Sublimationsgut zum Rezipienten hin genügt, um Kristalle entstehen zu lassen. Die Dauer der Sublimation spielt bei dieser Versuchsanordnung eine besonders große Rolle. Es darf der Versuch nicht nach 1 bis 2 Stunden schon angebrochen werden, sondern muß einen ganzen Tag oder noch länger durchgeführt werden.

Eine weitere wichtige Komponente stellt das Temperaturgefälle zwischen dem Sublimationsgut und dem Rezipienten (dem Deckglas) dar. Allgemein kann gesagt werden: je größer das Gefälle, desto kleiner fallen die Kristalle aus, desto quantitativer ist jedoch die Sublimation. Das optimale Temperaturgefälle wechselt stark je nach der vorliegenden Substanz und nach den gestellten Ansprüchen. Ist nämlich das Temperaturgefälle zu klein, dann besteht, besonders bei gleichzeitiger Verwendung des Vakuums, die Gefahr, daß keine oder nur einige wenige Kristalle, die allerdings dann groß entwickelt auf dem Deckglas zu finden sind. Ist jedoch der Sublimationsabstand sehr gering, 0,1 bis 0,3 mm, dann genügt auch ein sehr kleines Temperaturgefälle zum Rezipienten. Es muß die Sublimationstemperatur so niedrig gewählt werden, daß erst nach Stunden sich ein Sublimat bemerkbar macht (KEMPF). Bei dieser Art der Sublimation ist eine geschlossene Sublimationskammer unbedingt notwendig, da sonst durch seitliches Wegsublimieren Verluste eintreten würden. Bei Sublimation unter Atmosphärendruck ist diese Gefahr verhältnismäßig gering. Im allgemeinen kann die Regel aufgestellt werden, daß man, um schöne Kristalle zu erhalten, womöglich nicht bei zu hoher Temperatur, keinesfalls in der Nähe des Schmelzpunkts der Substanz sublimieren soll, da dort die Tendenz zur Kristallbildung bei vielen Substanzen geringer wird. Ist das Temperaturgefälle zum Deckglas zu groß, wird also zu stark gekühlt, dann verläuft die Sublimation quantitativ, die Ausbildung der

Kristalle läßt jedoch häufig viel zu wünschen übrig. Diese sind dann klein und unbrauchbar für kristalloptische Untersuchungen. Träge kristallisierende Körper liefern bei dieser Gelegenheit ein tröpfchenförmiges Sublimat, das vielleicht erst später kristallinisch erstarrt (siehe S. 269). Das Optimum liegt daher in der Mitte zwischen diesen beiden Extremen. Man braucht jedoch, wenn die Anwendung einer Kühlung angezeigt erscheint, dieselbe nicht gleich mit kaltem Leitungswasser durchzuführen, sondern kühlt eventuell durch einen bewegten Luftstrom, wie ihn ein in einiger Entfernung aufgestellter Ventilator vermittelt. Es genügt auch in vielen Fällen das Aufsetzen des Wasserkühlers, ohne daß das Wasser darin zirkuliert. Schließlich ist nicht zu vergessen, daß auch bei normaler Sublimation die Kühlung bereits zu stark sein kann und das Auflegen eines kleinen Uhrglases oder des Deckels eines Wägegläschens, der Glocke auf Abb. 4 ohne Vakuumanschluß, eines dicken Glasplättchens oder einer Asbestscheibe zur Wärmeisolation sich empfiehlt. Es sei ferner noch darauf hingewiesen, daß es sich in manchen Fällen nötig erweist, beim Wechseln des Deckglases das neue vorher kurze Zeit auf die heiße Platte zu legen, so daß es nicht in kaltem Zustand von den Dämpfen der Substanz erreicht wird und zu Tröpfchenbildung oder schlecht ausgebildeten Kristallen Anlaß gibt.

Sublimationstemperatur, Sublimationsabstand, Dauer der Sublimation und Temperaturgefälle sind vier Faktoren, die bereits eine große Anzahl von Kombinationen zulassen. Dazu kommt noch ein letzter Punkt, die Anwendung des Vakuums. Man verwendet hierzu normalerweise eine Wasserstrahlpumpe, die etwa 12 mm Hg liefert, mit der Ölpumpe konnte mit einer sorgfältig aufgeschliffenen Glocke 0,1 mm erreicht werden. Durch das Vakuum wird einmal die zur Sublimation benötigte Zeit stark gekürzt und die Steigfähigkeit der Substanzdämpfe, bezw. deren Diffusion durch den Raum sehr erleichtert. Der Dampfdruck selbst bleibt jedoch konstant und ändert sich nur mit der Temperatur. Als wichtigste Regel gilt hier, daß bei der Vakuumsublimation die Sublimationstemperatur stark erniedrigt werden muß. Es entstehen sonst schlecht ausgebildete Kristalle, die für viele Zwecke nicht brauchbar sind, oder es bildet sich auf dem Deckglas überhaupt kein Sublimat, sondern die Substanz setzt sich als ringförmiger Beschlag im oberen Teil der Vakuumglocke ab. Es wird in der Zeiteinheit viel mehr Material am Rezi-

pienten niedergeschlagen als bei der Sublimation bei Atmosphärendruck, und aus diesem Grunde muß die Temperatur erniedrigt werden. Eine allgemein gültige Vorschrift, um wieviel man die Temperatur erniedrigen muß, läßt sich nicht angeben. Die Werte schwanken zwischen 20 und 40°. Dafür entstehen bei der Vakuumsublimation in den meisten Fällen weit schöner ausgebildete Kristalle, was sowohl für die Beobachtung als auch zur kristalloptischen Untersuchung von Vorteil ist. Der Sublimationsabstand soll im Vakuum nicht zu klein gehalten werden, da sonst häufig überhaupt kein Sublimat entsteht. Als Ursache kann hierbei die bei geringem Abstand ungenügende Kühlung des Rezipienten infolge großer Nähe der Heizplatte angesehen werden, wobei eben zu berücksichtigen ist, daß gerade die Anwendung des Vakuums eine kräftige Kühlung erheischt. Für solche Zwecke ist beispielsweise eine Vakuumglocke mit Kühlvorrichtung zu empfehlen. Will man nicht mit Wasser kühlen, dann kann man sich auch so helfen, indem man die große Vakuumglocke (siehe Abb. 4) verwendet und noch einen oder zwei Glasringe auf der Platte aufsetzt, dadurch den Sublimationsabstand und auch das Temperaturgefälle erhöht. Auch das Aufsetzen eines großen Schälchens (5 mm Höhe) in die 1 mm tiefe Ausnehmung wird für manche Zwecke entsprechen, da in diesem Falle praktisch nur die Grundfläche des Schälchens erhitzt wird. Bei Anwendung des Vakuums muß man also um so mehr für Kühlung sorgen, je niedriger der Sublimationsabstand ist. Sublimiert man einmal bei geringem Sublimationsabstand, so hat die Temperatursteigerung besonders langsam zu erfolgen und können Schwankungen, bezw. eine Überhitzung von einigen Graden bereits das Verschwinden des Sublimats erwirken. Das gilt besonders für einen Apparat ohne automatischer Temperaturregulierung. Die in diesem Falle immer auftretenden Schwankungen der Temperatur sind bei dieser Art der Sublimation nicht zu vernachlässigen.

Bei der Durchführung einer Sublimation sind die genannten Komponenten in erschöpfender Weise zu kombinieren, um für den Versuch die gerade optimalen Verhältnisse aufzufinden. Ist bei der Durchführung eines Versuches die Temperatur mit Rücksicht auf die Eigenschaft der Substanz begrenzt (Gefahr der Zersetzung), dann vereinfacht sich die Zahl der Kombinationsmöglichkeiten. Die technischen Schwierigkeiten nehmen jedoch häufig zu, da damit ein

wichtiger Faktor zur Regelung der Sublimation fortfällt. Es ist dann oft angezeigt, sich des Hochvakuums zu bedienen, wobei die Sublimationstemperatur noch weiter erniedrigt werden kann und überhaupt alle die unter „Vakuum" aufgestellten Forderungen sinngemäß erweitert werden müssen.

In manchen Fällen, besonders bei schwerflüchtigen Substanzen, ist auch eine nicht ganz dichtende Vakuumglocke, die entweder ungenügend eingeschliffen oder durch Zwischenlegen eines Haares etwas Luft durchläßt, bei gleichzeitiger Anwendung einer leistungsfähigen Pumpe von Vorteil. Durch den bei dieser Versuchsanordnung entstehenden heißen Luftstrom, der entlang der ebenen Platte und dann am Schälchen vorbei auf diese Weise über das Sublimationsgut streicht, wird unter Umständen die Bildung eines brauchbaren Sublimats begünstigt.

Die an ein Sublimat gestellten Anforderungen sind wohl auch ziemlich different, so wird z. B. einmal ein gleichmäßiges Sublimat mit kleinen Kristallen, dann wieder ein Sublimat mit einzelnen großen Kristallen für kristalloptische Untersuchungen gefordert. Zuweilen soll die Sublimation quantitativ, dann wieder fraktioniert durchgeführt werden. Es ist daher nicht gut möglich, für ein und dieselbe Substanz eine genaue Arbeitsvorschrift für die Herstellung von Sublimaten schlechtweg anzugeben, da diese naturgemäß stark variieren muß. Besitzt man keine Anhaltspunkte für das Verhalten einer Substanz, dann führt man die Sublimation zuerst bei gleichzeitiger mikroskopischer Beobachtung durch, um etwa auftretende dünne Beschläge nicht zu übersehen und die Sublimationstemperatur festzustellen. Das Steigern der Temperatur hat sehr langsam zu erfolgen. Die Sublimationshöhe soll hierbei möglichst weitgehend variiert werden. Praktisch ist hierbei auch die Anordnung auf der großen Sublimationsplatte, die mehrere verschiedene Sublimationshöhen einzuhalten und die Sublimation bei gleicher Temperatur durchzuführen erlaubt. Ferner besteht die Möglichkeit, durch die Auswahl hoher und niedriger Schälchen und Glasringe das Temperaturgefälle und die Sublimationshöhe stufenweise innerhalb gewisser Grenzen zu verändern. Dazu kommt dann noch die Verwendung der Kühlapparate oder eines Ventilators und schließlich das Vakuum, mit dem alle vorher angestellten Versuche kombiniert werden müssen.

Beim Zustandekommen eines Sublimats spielen jedoch noch andere Faktoren, die nicht durch den Apparat selbst bedingt sind, eine nicht zu unterschätzende Rolle.

1. Der Zustand des Sublimationsgutes. Dieses kann als feines Pulver, in Form größerer Körner oder Brocken oder in Form eines dünnen Häutchens, entstanden beim Verdunsten einer Lösung, vorhanden sein. Verwendet man ein und dieselbe Substanz und legt diese einmal in Form grober Kristalle in das Schälchen und tropft das andere Mal eine Lösung in Äther oder Chloroform in das erwärmte Schälchen, dann erhält man bei der später durchgeführten Sublimation unter Umständen recht verschieden ausgebildete Kristalle. Beim Auftropfen der Lösung entsteht durch das Eintrocknen des Lösungsmittels eine dünne, feine Schicht im Schälchen. Es verflüchtigt sich daher in diesem Falle bei gleicher Temperatur in der Zeiteinheit mehr Substanz, als wenn im Schälchen die groben Kristalle liegen würden, die nur eine ganz kleine Auflagefläche besitzen, wobei nur diese auf die entsprechende Temperatur erhitzt wird. Es wird also im ersten Falle die dünne Schichte bald wegsublimieren und ein Sublimat liefern, während im zweiten Falle bei gleicher Temperatur mit den großen Kristallen kaum ein Anflug noch zu finden ist, und erst nach Erhöhung der Temperatur ein Sublimat erhalten werden kann, das bezüglich seiner Kristallformen wahrscheinlich nicht identisch ist mit dem vorher erhaltenen Sublimat des feinen Substanzhäutchens im Schälchen. In Fällen, bei denen in einem Schälchen das feine Substanzhäutchen und Kristalle vorhanden sind, beobachtet man folgendes Phänomen: Bei ansteigender Temperatur entstehen anfangs einige Sublimate, bis das Häutchen verschwunden ist, dann bei weiterer Steigerung der Temperatur nichts und erst später wieder Kristalle, die von den groben Kristallkörnern herrühren. Man kann also die Sublimation wesentlich beschleunigen, wenn man die Substanz in feinverteilter Form in das Schälchen bringt. Am besten durch Abtropfen einer Lösung in irgendeinem leicht flüchtigen Lösungsmittel. Von Bedeutung ist der Zustand des Sublimationsgutes gerade bei der fraktionierten Sublimation. Quantitativ ist diese nur in wenigen Fällen einwandfrei durchführbar. Zum Nachweis zweier oder mehrerer Substanzen nebeneinander ist sie wohl sehr geeignet, besonders dann, wenn das Mengenverhältnis für eine der Substanzen nicht allzu ungünstig ist. Beim

Nachweis von Konservierungsmitteln hat sich die fraktionierte Sublimation gut bewährt (siehe R. FISCHER[13]). Es muß hierbei — abgesehen von der Einhaltung der für die betreffende Substanz passenden Versuchsbedingungen, was nämlich Temperatur und Abstand betrifft — das Sublimationsgut möglichst gleichmäßig verteilt vorliegen, was wohl am besten durch Verdunsten einer die zu trennenden Substanzen enthaltenden Lösung erfolgt. Man muß sich dabei aber hüten, zuviel Material im Schälchen zu verdunsten, da sonst im Mikroschälchen große Klumpen sich bilden könnten, wodurch dann die Sublimationstemperatur — denn nur auf diese kommt es bei solchen Versuchen an — verändert würde, wie oben bereits ausführlich erwähnt wurde.

Einen zweiten nicht minder wichtigen Punkt stellt die Beschaffenheit des als Rezipient dienenden Deckglases oder Objektträgers dar. Es hängt besonders die Darstellung bestimmter Kristallformen, die bei der Untersuchung von polymorphen Substanzen benötigt werden, sehr von der richtigen Behandlung des Deckglases ab. Schwierig ist die Herstellung solcher Sublimate besonders deshalb, weil zur kristalloptischen Untersuchung nur gut ausgebildete und nicht miteinander verwachsene Kristalle oder drusenartige Aggregate Verwendung finden können. Im folgenden sind an Hand zweier Beispiele die Bedingungen, unter welchen bei einigen bearbeiteten Substanzen stabile oder metastabile Kristalle entstanden sind, kurz beschrieben.

Vom Nipagin (L. KOFLER und A. KOFLER[14]) erhält man stabile Kristalle, durch Sublimation bei Atmosphärendruck bei einem Abstand von 0,1 bis 0,2 mm. Fast ausschließlich metastabile Kristalle werden bei einem Abstand von 1 bis 2 mm und energischer Kühlung bei Atmosphärendruck erhalten. In diesem Falle gelingt also die Trennung der beiden Modifikationen sehr leicht und quantitativ.

Beim Veronal (R. FISCHER und A. KOFLER[15]) glückt es selten, eine der drei Formen willkürlich mit Sicherheit zu erhalten. Sehr schöne metastabile Kristalle erhielt ich jedoch, als ich den bei einer Vergiftung abgenommenen Liquor cerebrospinalis untersuchte. Das im Vakuum hergestellte Sublimat bestand fast nur aus schön ausgebildeten metastabilen Kristallen vom $Fp = 182^{0}$, die normaler-

[13] Zeitschr. Untersuch. Lebensm., **67**, 161 (1934).

[14] Mikrochemie, **IX**, 45 (1931).

[15] Arch. Pharmaz. / Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges., **270**, 207 (1932).

weise nur durch Zufall zu erhalten waren und um die ich mich früher tagelang bemühen mußte. In diesem Falle spielen vermutlich die aus dem Liquor noch mitsublimierenden geringen Verunreinigungen eine Rolle, die offenbar die Ausbildung der metastabilen Kristalle begünstigten, wie ich es auch in anderen Fällen beobachten konnte.

Vorschriften zur Gewinnung stabiler oder metastabiler Kristalle sind im allgemeinen schwierig zu geben. Hervorgehoben sei, daß die Entstehung der metastabilen Kristalle durch eine kurze Sublimationsdauer begünstigt und meist ein sorgfältig von Kristallkeimen der stabilen Form gereinigtes Deckglas benötigt wird, während bei länger dauernder Sublimation sich meist die Kristalle der stabilen Modifikation bilden. Mit ziemlicher Sicherheit werden stabile Kristalle erhalten, wenn man das Deckglas vorher mit der Substanz bestreut. Trotz des Abwischens bleiben dann noch Spuren derselben zurück, die dann bei der Sublimation als Keime für die stabilen Kristalle dienen. Es zeigen diese Beispiele also, daß sowohl der Zustand des Sublimationsgutes als auch das Deckglas für die Ausbildung von Sublimaten wesentlich sind.

Man wird also gut tun, in solchen Fällen alle Möglichkeiten zu versuchen. Die elektrische Ladung des trockengewischten Deckglases (Anziehen von Pulverpartikelchen aus dem Schälchen beim Auflegen des Deckglases) wird durch kurzes Durchziehen durch eine Gasflamme beseitigt. Nicht zu vernachlässigen ist auch die wesentlich niederere Temperatur eines nach dem Wechseln frisch aufgelegten Deckglases. In vielen Fällen, nicht nur hier bei den Modifikationen, sondern auch bei der gewöhnlichen Mikrosublimation soll das Deckglas auf der Heizplatte einige Sekunden verweilen und dann erst aufgelegt werden, da sonst, wie bereits oben erwähnt, sich oft ein tröpfchenförmiger Beschlag bildet, bevor die Kristalle zu erscheinen beginnen.

Bisher war lediglich von Substanzen die Rede, die in der Regel kristallisierte Sublimate liefern. Jetzt komme ich auf die Körper zu sprechen, die verhältnismäßig schwer zur Kristallisation zu bringen sind. In solchen Fällen sind besonders zwei Punkte zu beobachten. Anwendung niedriger Temperatur und Vakuum. Die niedrige Temperatur ergibt sich häufig aus der Verwendung des Vakuums von selbst. Verzichtet man auf das Vakuum, dann ist ein kleiner Sublimationsabstand bei möglichst niedriger Temperatur zu wählen. In

manchen Fällen ist auch Kühlung anwendbar. Doch erhält man hier meist wenig schön ausgebildete Kristalle und häufig nur erstarrte Tropfen. Eine sehr wichtige Rolle spielt bei solchen schwer kristallisierenden Körpern ferner die Behandlung des Deckglases während und nach der Sublimation.

Bei tröpfchenförmigen Sublimaten wird durch Kratzen mit einer reinen Platin- oder Stahlnadel die Kristallisation angeregt und das Deckglas nach dem Kratzen sofort wieder aufgelegt. Auch hier kann man häufig beobachten, daß ein nicht völlig blank geputztes Deckglas eher Neigung zur Kristallbildung zeigt als ein blank geputztes. Erzielt man mit dem Kratzen keinen Erfolg, auch bei mehrmaliger Wiederholung nicht, und ist das Tröpfchensublimat bereits zu dicht geworden, dann sublimiert man auf ein zweites Deckglas, und zwar mit geringem Sublimationsabstand, wobei das Kratzen wiederholt wird. Man nennt diesen Vorgang das „Umsublimieren", worüber schon auf S. 256 gesprochen wurde.

Das Umsublimieren muß unter Umständen bis zur völligen Reinigung des Sublimats oder bis zum Erhalt eines kristallisierten Sublimats wiederholt werden. Bei schwer kristallisierbaren Substanzen ist noch zu berücksichtigen, daß aus abgekühlten tröpfchenförmigen Sublimaten im allgemeinen selten schöne Kristalle gebildet werden. Höchstens erstarren die Tropfen nach kürzerer oder längerer Zeit kristallinisch. Wesentlich ist, daß beim Umsublimieren der Rezipient immer bei der Temperatur gehalten wird, die einerseits dem Schmelzpunkt nicht zu nahe, anderseits nicht so niedrig ist, daß die anfangs entstandenen Tropfen bereits zäh werden und den Richtkräften für die Kristallisation allzu große Widerstände entgegengesetzt werden. Am günstigsten dürfte es sein, wenn man den Rezipienten (das Deckglas) nur wenige Grade unter die gerade verwendete Sublimationstemperatur erwärmt, was sich leicht bei niedrigem Sublimationsabstand von zirka 0,2 mm, Wärmeisolation des Deckglases durch Asbest usw. und durch längerdauernde Sublimation bewerkstelligen läßt.

Eine Kristallisation kann man auch dadurch erreichen, daß man das Deckglas mit dem tröpfchenhaltigen Sublimat nach unten über eine Vertiefung der Platte des erwärmten Apparats legt und zuweilen kratzt. Wesentlich ist hierbei nur die Einhaltung einer Temperatur, bei der die Kristallisation noch vor sich gehen kann.

Es gibt noch andere Mittel, um in tröpfchenförmigen Sublimaten die Kristallisation anzuregen, so z. B. das Anhauchen oder das Betupfen mit Alkohol u. a. m. Diese Kunstgriffe gehören jedoch nicht mehr zum Kapitel „Sublimation" und seien an dieser Stelle nicht erwähnt.

Zusammenfassung.

Von den bereits vorhandenen Apparaten zur Mikrosublimation werden die wichtigsten kurz beschrieben, wobei auf die Apparate mit Messung der Sublimationstemperatur mehr Gewicht gelegt wird. Ausführlicher wird der Apparat von FISCHER behandelt. Dieser Apparat, dessen wesentlicher Bestandteil eine geheizte, mit Vertiefungen versehene Messingplatte darstellt, vermag alle verschiedenen Möglichkeiten zu erschöpfen, die bisher bei der Konstruktion von Sublimationsvorrichtungen maßgebend waren: Die Temperatur wird einwandfrei gemessen, die Sublimationshöhe läßt sich variieren. Flüssigkeiten können verdunstet und dann die Sublimation eingeleitet werden, mit Vakuum, ferner mit Vakuum und Kühlung kann gearbeitet werden. Auch eine automatische Temperaturregulierung ist vorhanden. Das Temperaturgefälle zum Rezipienten kann beliebig verändert und auch dessen Temperatur gemessen werden.

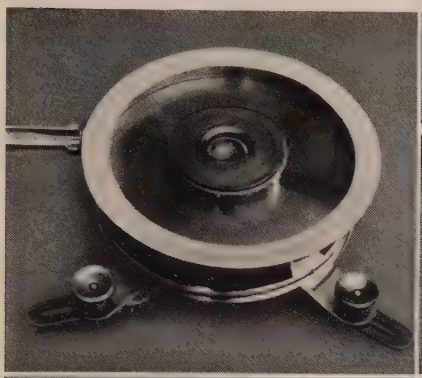
Fast alle diese Versuchsbedingungen lassen sich einhalten, wenn man diesen Apparat mit einem Mikroschmelzpunktapparat kombiniert: Die meisten Versuche werden dann bei mikroskopischer Beobachtung durchgeführt, was einen großen Vorteil darstellt. Es werden kleine, runde Metallblöcke (Sublimationsblöcke) auf den Mikroschmelzpunktapparat aufgelegt, die dieselben zusätzlichen Vorrichtungen anzubringen erlauben, wie es auf der oben erwähnten Sublimationsplatte der Fall ist.

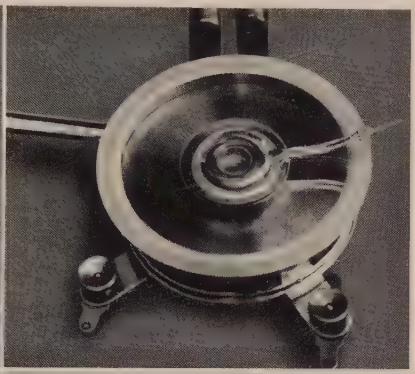
Es werden die bei der Durchführung der Sublimation möglichen Variationen und deren Wirkungen erörtert, und zwar 1. soweit sie in der Apparatur selbst verankert sind. Es wird hierbei die Sublimationstemperatur, der Sublimationsabstand und die Sublimationsdauer, das Temperaturgefälle und der Einfluß des Vakuums ausführlich besprochen; 2. soweit sie nicht durch den Apparat selbst bedingt sind: Der Zustand des Sublimationsgutes und des Deckglases wird besprochen und die Folgen, die sich daraus speziell für die Untersuchung polymorpher Substanzen ergeben.

R. Fischer, Apparate und Methoden der Mikrosublimation.

Abb. 1. Mikroschmelzpunktapparat mit Sublimationsblock.

Abb. 2. Mikroschmelzpunktapparat mit Sublimationsblock und Vakuumglocke.





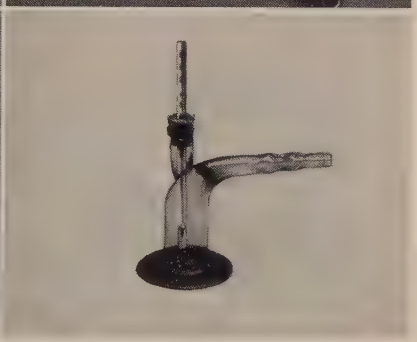


Abb. 3. Hohe Vakuumglocke und Glocke mit Kühlung.

Abb. 4. Vakuumglocke mit Thermometer.

Abb. 1.

Mikroschmelzpunktapparat mit Sublimationsblock. In der Vertiefung des Metallblocks ist die zentrale Bohrung für den Lichtdurchtritt und auch das Glasschälchen sichtbar. Die Vertiefung ist bedeckt mit einem ein Sublimat tragenden runden Deckglas. Eine durchlochte, runde, am Rand mattierte Glasplatte bedeckt den Apparat und läßt die Oberseite des Blocks frei. Die Zuführung des Heizstroms ist auf diesem Bild nicht sichtbar.

Abb. 2.

Mikroschmelzpunktapparat mit Block und aufgesetzter Vakuumglocke mit planparalleler Wand zur mikroskopischen Beobachtung der Vakuumsublimation. Sonst wie Abb. 1. Stromzuführung sichtbar.

Abb. 3.

Links Vakuumglocke ohne Kühlung, hohe Form ohne planparallele Wand, auf einem Sublimationsblock aufsitzend. Im Innern ist das Schälchen und ein Glasring, der oberseits ein rundes Deckglas mit Sublimat trägt, deutlich sichtbar. Rechts eine Vakuumglocke mit Wasserkühlung. Das Kühlrohr ist unterseits plan geschliffen.

Abb. 4.

Tubulierte Vakuumglocke mit eingeführtem Thermometer zur Messung der Temperatur des Rezipienten. Diese Glocke kann auch ohne Vakuumanschluß zur Temperaturmessung verwendet werden.

Verlag **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

The Use of Potassium Mercuri-Selenocyanate as a Reagent in Qualitative Microanalysis[1].

By

A. A. Benedetti-Pichler and W. F. Spikes, jr.

Contribution from the Chemical Laboratories of Washington Square College of New York University.

(Eingelangt am 17. Mai 1934.)

Introduction.

The mercuri-t h i o cyanate complex, $[Hg(CNS)_4]''$, has been used extensively in the detection of copper, cadmium, zinc, and cobalt in inorganic microanalysis. Recently it was suggested as a test for nickel by M. N. Short[2]. When used for a reagent, potassium or ammonium mercuri-t h i o cyanate is added to a test drop either as a solution or in the solid state. Limits of identification for the metals mentioned above vary from a few hundredths to a tenth of a microgram. In the case of cobalt, N. Schoorl was able to detect 0,0001 of a microgram by evaporating the cobalt solution to dryness and adding the reagent as a solution to this residue.

Unfortunately the limits of proportion are not as satisfactory as the limits of identification. For example, it is impossible to recognize cadmium when an equal amount of copper is present in the solution. Similarly, the presence of cadmium is masked by four times the amount of cobalt, or an equal quantity of zinc, and the presence of cobalt is masked by an equal amount of copper[3].

[1] A preliminary report on this work was read by Dr. Janet W. Matthews at the annual meeting of the Microchemical Club of England, in London, on March 17, 1934. Mikrochemie **15**, 160 (1934).

[2] M. N. Short, Microscopic Determination of the Ore Minerals, U. S. Geological Survey Bulletin 825.

[3] W. F. Whitmore and F. Schneider, Mikrochemie, **VIII**, 293 (1930).

The present investigation was begun with the hope that the substitution of selenium for sulfur in the cyanate complex might improve the limiting proportions of the tests. However, this expectation was only partially fulfilled. This can be understood when it is considered that selenium and sulfur are much alike chemically, and therefore, the exchange of one for the other in a heavy complex ion can cause little difference in the chemical behavior. The experimental facts found are, aside from an analytical point of view, of theoretical interest, as they again emphasize the great similarity existing between sulfur and selenium compounds.

Experimental Work.

1. Microchemical Tests with Potassium Mercuri-selenocyanate.

In the tests described below, a particle of solid reagent half the size of a poppy seed was added to 5 cmm. of the cation solution to be tested. Tests are best carried out in neutral solutions, since the complex ion, $[Hg(CNSe)_4]''$, is rather sensitive to acids, although it is more stable in acid solutions than the selenocyanate ion $(CNSe)'$. The latter is decomposed even in a solution of very low hydrogen ion concentration.

Precipitates obtained with the selenocyanate complex and cobalt, nickel, zinc and cadmium ions, resemble closely those obtained with the corresponding thio compound.

Cadmium: The crystals of cadmium mercuri-selenocyanate (Fig. 1) are long, colorless prisms, with one end round and the other square. The square ends appear black due to refraction phenomena. The crystal faces are not smooth, but pitted in various places where crystal growth is imperfect. The cadmium complex is more soluble than the zinc, and crystallizes from dilute solution only after partial evaporation of the test drop has increased its concentration.

Zinc: In dilute zinc solutions, small, colorless, arrow-head shaped crystals form. These are similar to the ones shown in Fig. 18, table XV, volume VIII, of this journal. However, with more concentrated zinc solutions, the arrowheads grow into large, feathery crystalline aggregates (Fig. 13, table XV, volume VIII, of Mikrochemie).

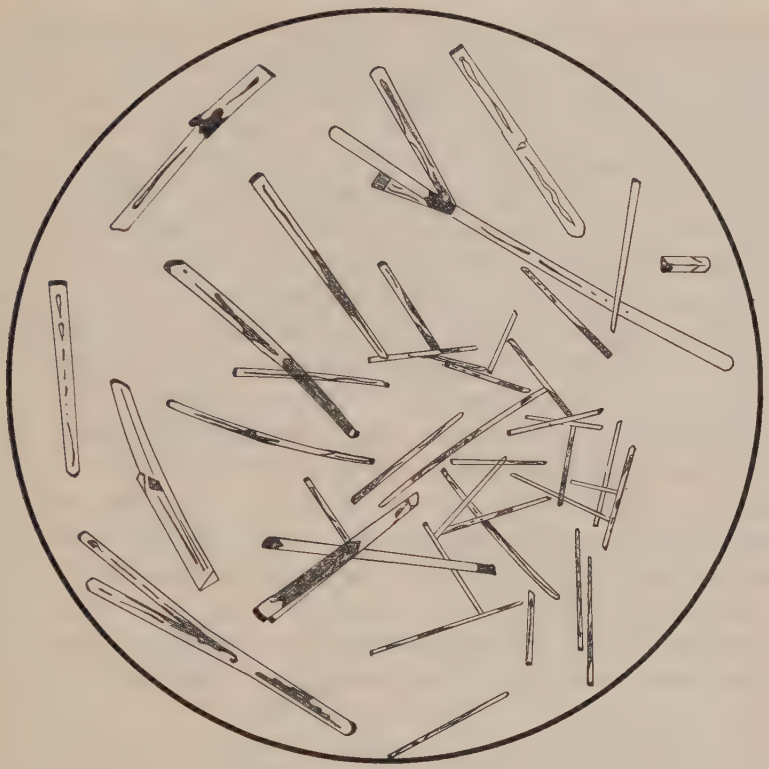


Fig. 1.
Cadmium Mercuri-selenocyanate.

Cobalt: The cobalt mercuri-selenocyanate precipitate shows exactly the same crystal forms as the corresponding thio compound, except the color of the seleno compound is greenish-blue in contrast to the cornflower blue of the thio complex.

Copper: Potassium mercuri-selenocyanate precipitates from dilute copper solutions a light-brown, amorphous solid unfit for microchemical purposes. From concentrated solutions, however, the amorphous mass dissolves and reprecipitates as light-yellow spheres, half moons, and other odd shaped bodies; potassium mercuri-thio cyanate, on the other hand, precipitates dendrites, needles, and spears from copper solutions.

Nickel: When the selenocyanate complex is added to nickel solutions, nickel mercuri-selenocyanate precipitates first as an

amorphous mass, which slowly dissolves and later recrystallizes as small light-green spherulites. These appear white by reflected light. In solutions of nickel containing small traces of iron, the nickel spherulites assume a light-brown color. Between crossed nicols, the spherulites remain bright during a full rotation of the stage; the stationary black crosses, so characteristic of this crystal type, are barely perceptible. In addition to the spherulites, small, light-green squares, rectangles, and triangles appear when dilute nickel solutions are tested. The potassium mercuri-selenocyanate provides a far better reagent for nickel than the correspondig complex thio salt. With the latter, the precipitation of the complex does not begin until evaporation is almost complete.

Iron: From rather concentrated solutions of ferrous salts, potassium mercuri-selenocyanate precipitates light-yellow needles, while ferric salts, on the other hand, give an amorphous red precipitate which is probably selenium as it closely resembles the precipitate obtained when the mercuri-selenocyanate reagent is treated with acids.

Manganese: Potassium mercuri-selenocyanate gives bundles of colorless needles from rather concentrated manganese solutions. From dilute, however, no precipitate is obtained.

The solubilities of all the complex selenocyanates seems to be lower than those of the corresponding thio compounds. This is borne out by the amorphous form of the copper mercuri-selenocyanate (the copper mercuri-thiocyanate precipitates as dendrites and needles), and may be derived also by an inspection of the following limits of identification, which were calculated for test drops of 1 cmm volume.

Table I.

cation	seleno complex	thio complex
Co	0,1 γ	0,3 γ (BEHRENS)
Ni	0,05 γ	0,1 γ (SHORT[4])
Cd	1,0 γ	1,0 γ (BEHRENS)
Zn	0,01 γ	0,1 γ (BEHRENS; (SCHOORL; SHORT)

[4] M. N. SHORT, l. c.

Of special interest is the behavior of solutions containing combinations of two or more of the cations mentioned above. However, only a few of the possible cases will be discussed in detail.

Zinc and Cadmium: Solutions containing equal parts of zinc and cadmium give the characteristic crystals of the zinc only. Cadmium cannot be recognized. With 3 parts of cadmium and 1 part of zinc, characteristic zinc, characteristic cadmium, and transitional (hybrid) forms, which exhibit features of both the pure zinc and the pure cadmium complex, are observed. When the concentration of cadmium becomes 8 times greater than that of zinc, a characteristic cadmium precipitate is obtained which is only slightly modified by the presence of zinc. In solutions containing 10 parts of cadmium to 1 of zinc, the presence of zinc cannot be detected.

Zinc and Cobalt: Zinc mercuri-selenocyanate and the corresponding cobalt compound form mixed crystals. The blue coloration of the mixed crystals due to the presence of cobalt is very persistent, and makes possible the recognition of cobalt in solutions containing 1 part of cobalt and 100 parts of zinc.

Zinc and Copper: Mixed crystals of copper mercuri-thiocyanate and zinc mercuri-thiocyanate possess a violet to black color which cannot be explained by simply attributing it to the color of the component salts as these are greenish-yellow and colorless. This peculiar phenomenon has repeatedly attracted the attention of theorists and analysts. In the present investigation, a similar phenomenon was observed with the seleno complex. $ZnHg(CNSe)_4$ is white and $CuHg(CNSe)_4$ is brownish-yellow, but mixed crystals of the two vary in shade from yellow to light green to dark green. Solutions containing 1 part of copper and 50 parts of zinc give precipitates showing exclusively the form of the zinc complex. However, a few of the crystals always have a dark green color. Mixtures containing higher ratios of copper, give amorphous brown precipitates of the copper salt in addition to the green mixed crystals exhibiting the $ZnHg(CNSe)_4$ form. When the ratio of copper and zinc is 1 : 1, colorless crystals of the zinc com-

plex are obtained along with the amorphous copper precipitate, but green mixed crystals are no longer observed.

Cobalt, Copper, Nickel and Iron: The mercuri-selenocyanate reagent proves to be a very good reagent for testing the purity of cobalt solutions. Cobalt mercuri-selenocyanate always precipitates as greenish-blue clusters of needles and spears; however, when traces of iron, copper, or nickel are present, the precipitation of the blue cobalt salt is followed by the appearance of small brown, light-yellow, or light-green spherulites (Fig. 2). When nickel is the only impurity, the spherulites are light-green, and may be accompanied by small light-green squares, rectangles, and trian-

Fig. 2.

Large blue-green needles and quills of cobalt mercuri-selenocyanate and small light-brown spherulites, squares, and triangles caused by the presence of impurities.

gles. Copper as the sole impurity renders the color of the small spherulites brownish-yellow. When iron is the only impurity, the spherulites assume a reddish-brown hue; in this case, the spherulites often grow into clusters of reddish-brown needles which have identically the same shape as the greenish-blue cobalt mercuri-selenocyanate. If ferric iron and nickel or copper are present as impurities, the brown color of the salt will predominate. Every sample of C. P. cobaltous chloride investigated showed traces of impurities. Therefore, in order to determine exactly which ion caused the formation of the spherulites, it became necessary to purify salts of cobalt, nickel, copper, and iron. All of the water and acids used in this work were distilled in quartz apparatus, while the ammonium hydroxide was distilled in pyrex. The purification of cobaltous chloride proved to be especially difficult, but after various unsuccessful attempts, some pure cobaltous chloride was obtained by repeated recrystallization of chloro-pentamminecobaltic chloride according to T. W. RICHARDS and G. P. BAXTER[5]. However, a larger portion of the pure preparation obtained in this manner was contaminated with a trace of iron while being heated in a covered Stähler block. We are aware of the fact that the task of preparing pure reagents is especially difficult in our dust infested laboratory which is located in the center of the metropolis. Nevertheless, we believe that our experience suggests the use of potassium mercuri-selenocyanate as a rapid preliminary test for the purity of cobalt salts that are intended for standard work, as e. g., the determination of the atomic weight. The limiting proportions for the detection of iron, copper, and nickel in cobalt solutions are listed in table III.

A large number of solutions containing various combinations of zinc, cadmium, cobalt, copper, nickel, and iron ions in various proportions have been investigated. The results are presented in table II. Mixtures marked with an asterisk (*) have been investigated also by W. F. WHITMORE and F. SCHNEIDER for their behavior toward potassium mercuri-thiocyanate. For a comparison of results see table on page 303 of Mikrochemie, **VIII** (1930).

[5] T. W. RICHARDS and G. P. BAXTER, Proc. Am. Acad., **35**, 61 (1899).

Table II.

Cu : Zn	
10 : 1	Amorphous brownish-yellow precipitate of copper accompanied by a few small feathery crystals of zinc.
2 : 1	Same as above except the number of feathery crystals has greatly increased.
1 : 1*	Same as above.
1 : 2*	Amorphous brownish-yellow precipitate of copper accompanied by feathery green mixed crystals of copper and zinc.
1 : 10*	Same as above.
1 : 50	Characteristic white feathers of zinc mixed with a few crystals having the zinc form but green in color.
Cd : Cu	
3 : 1	Amorphous precipitate of copper. Few short spears of cadmium complex.
9 : 1*	Same as above except the number of cadmium spears has increased.
100 : 1	Very small amount of brownish-yellow amorphous copper precipitate. Large number of cadmium spears. No mixed crystals.
Cu : Co	
1 : 2	Amorphous brownish-yellow precipitate of copper. Few small, blue needles of cobalt.
1 : 4	Amorphous brownish-yellow precipitate of copper. Clusters of blue cobalt compound.
1 : 100	Small amount of brownsh-yellow amorphous copper precipitate. Large number of blue cobalt clusters.

Table II (continuation).

Cu : Ni	
40 : 1	Amorphous brownish-yellow copper precipitate, but mostly the light green spherulites of nickel.
30 : 1	Amorphous brownish-yellow copper precipitate, green spherulites of nickel, and some green mixed crystals having forms of needles and crosses.
25 : 1	Brownish-yellow amorphous precipitate of copper. Few green mixed crystals as above, and some light green spherulites.
5 : 1	Amorphous brownish-yellow precipitate of copper. Light-green nickel spherulites.
1 : 1	Same as above.
1 : 10	Same as above.
1 : 100	Small amount of amorphous copper precipitate. Large number of nickel spherulites.
Zn : Cd	
1 : 1*	Feathery crystals of zinc only.
1 : 2	Feathery crystals of zinc accompanied by a few clusters of spears having the form of cadmium.
1 : 8	Principally spears of cadmium, but a few spears show the influence of zinc by forming clusters.
1 : 10	Cadmium spears only.
Zn : Co	
100 : 1	All of the crystals have the feathery forms of the zinc complex, but they are tinted a very light blue.
9 : 1*	Same as above except the blue color is much darker.

Table II (continuation).

Zn : Co	
1 : 1*	Characteristic blue clusters of cobalt. Crystals which are a modified form of the zinc, but colored blue.
1 : 5	Same as above.
1 : 10	Characteristic blue clusters of cobalt, and just a few blue mixed crystals.
Zn : Ni	
1 : 1	Nickel spherulites. Few light-green crystals which are a modification of the zinc feathers.
2 : 1	Characteristic zinc feathers only. These have a light-yellow color.
Cd : Co	
100 : 1	Cadmium parallelograms predominate, however, a few of these form clusters which indicate the presence of cobalt, the entire precipitate is light blue.
9 : 1	Cadmium as parallelograms and cobalt as clusters of needles. All are blue.
1 : 1*	Same as above.
1 : 4*	All of the crystals are blue and in clusters, but a few of the needles are modified parallelograms.
Cd : Ni	
100 : 1	Cadmium parallelograms accompanied by small irregular bodies which are the modified nickel spherulites.
50 : 1	Same as above.
25 : 1	The cadmium parallelograms form clusters although retaining the characteristic shape of cadmium. Nickel spherulites. All of the crystals are a very light green.

Table II (continuation).

Cd : Ni	
20 : 1	Same as above.
1 : 1	Nickel spherulites. Very light green. Clusters of very small parallelograms.
1 : 3	Nickel spherulites and a very few of the clusters of parallelograms.
Co : Ni	
70 : 1	Blue clusters of needles indicating cobalt. Few light green spherulites of nickel.
1 : 1	Spherulites of nickel. A few spheres having the shape of the nickel but blue in color.
Co : Fe	
800 : 1	One part of ferric iron in 800 parts of cobalt gives brownish spherulites which stand out in sharp contrast to the blue cobalt needles.
Cd : Co : Cu*	
10 : 10 : 1	Blue mixed crystals of cadmium and cobalt accompanied by a light brown copper precipitate.
Cd : Zn : Cu*	
10 : 10 : 1	Amorphous precipitate of copper; green mixed crystals of zinc and copper; and white feathery zinc crystals.
Cd : Zn : Co*	
1 : 1 : 1	Light-blue, feathery zinc crystals only.
Zn : Co : Cu : *	
10 : 10 : 1	Blue feathers having the form of the zinc complex and the color of the cobalt. Clusters of cobalt needles and a brown amorphous precipitate of copper.
Zn : Co : Cu : * Cd	
10 : 10 : 1 : 10	Same as above.

From data listed in table II, it is possible to determine limiting proportions for the various combinations of zinc, cadmium, copper, cobalt, and nickel ions. These are given in table III. The limiting proportions for any ion in the presence of another may be found at a glance by reading horizontally across a line. Thus the limiting proportion for copper in zinc is 1 : 50; for copper in cadmium is 1 : 100; for copper in cobalt is 1 : 100; and for copper in nickel 1 : 100.

Table III.

	Cu	Zn	Cd	Co	Ni
Cu	—	1 : 50	1 : 100	1 : 100	1 : 100
Zn	1 : 10	—	1 : 8	1 : 10	1 : 1
Cd	3 : 1	2 : 1	—	1 : 3	3 : 1
Co	2 : 1	1 : 100	1 : 100	—	1 : 1
Ni	1 : 40	2 : 1	1 : 100	1 : 70	—
Fe				1 : 800	

2. Preparation of Potassium Mercuri-seleno-cyanate.

The potassium seleno-cyanate (KCNSe) necessary for the preparation of the reagent was obtained according to L. Birkenbach and K. Kellermann[6].

[6] L. Birkenbach and K. Kellermann, Ber. dtsch. Chem. Ges., **58**, 786 (1925). See also

W. Crookes, Liebig's Annalen, **78**, 177 (1851).

T. Schjellerup, Liebig's Annalen, **109**, 125 (1859).

H. Stolte, Ber. dtsch. Chem., **19**, 1577 (1886).

W. Muthman and E. Schröder, Ber. dtsch. Chem. Ges., **33**, 1765—1790 (1900).

M. Simon, Wien, Monatsh., **26**, 959 (1905).

Mercuric-selenocyanate was obtained by adding a solution of potassium selenocyanate to an aqueous solution of mercuric chloride. The precipitate thus obtained was filtered and washed, and then titrated with more potassium selenocyanate solution until only a trace of $Hg(CNSe)_2$ remained undissolved. The idea of using this solution as a reagent was abandoned when it was discovered that the solution showed marked decomposition within a few days. Solid potassium mercuri-selenocyanate was obtained by evaporating the solution on a water-bath, and then recrystallizing the complex selenocyanate from absolute alcohol. The evaporation of the alcohol was accomplished by passing a rapid stream of air through the filtered solution at room temperature. Potassium mercuri-selenocyanate crystallized as white, non-hygroscopic needles whose composition was shown to be $K_2Hg(CNSe)_4$ by micro-Kjeldahl analysis. The solid reagent has shown only a slight decomposition after being kept in a plain glass vial for over six months.

3. Preparation of Salts Used for Test Solutions.

Cobaltous Chloride: The methods of T. W. Richards and G. P. Baxter[7] was used for the preparation of pure cobaltous chloride. It was observed that it is necessary to heat the chloropentamminecobaltic chloride at least 8 hours at 200—240° C. in order to completely convert it into the cobaltous chloride.

Iron, Cobalt, and Nickel-free Copper Nitrate: Pure copper nitrate was prepared by dissolving a copper wire of high purity in distilled HNO_3, and then electrolyzing the solution using 0,3—0,5 amperes and 2,5 volts.

The copper which plated out on the platinum cathode was dissolved in nitric acid and the solution evaporated to dryness.

Iron-free Nickel: The best method for nickel seemed to be electrolysis, also. Nickel and ammonium sulfate from Merck was treated with two drops of concentrated hydrochloric acid. Hydrogen sulfide was then passed in. This helped to precipitate any of the metals of the hydrogen sulfide group. After filtration, the nickel solution was treated with ammonium hydroxide until a clear, blue

[7] T. W. Richards and G. P. Baxter, l. c.

solution was obtained. Electrolysis was carried out for three hours using 2,8—3,5 volts and 0,5—1,5 amperes. The deposit of nickel on the platinum cathode was dissolved in distilled nitric acid. The method just outlined is a modification of the one used by T. W. RICHARDS and A. S. CUSHMAN[8]. It has been simplified since the cobalt did not have to be removed. The tests were being carried out in solutions which contained a large excess of cobalt, anyway.

Nickel and Copper-free Ferric Chloride: Iron wire intended for standardization of permanganate and shown by analysis to contain 99,8% iron, was dissolved in pure HCl and precipitated as ferrous hydroxide with NH_4OH. This precipitate and solution were electrolyzed overnight using platinum electrodes. The electrolysis was carried out in a manner to that reported by A. HOLLARD and H. BERTIAUX[9] in which they claim to be able to remove occluded materials from the precipitates. After electrolysis the solution was filtered, the precipitate dissolved in HCl, and evaporated to dryness.

4. Analysis of Mercuri-selenocyanates.

The potassium mercuri-selenocyanate and its zinc and cadmium salts have been analyzed by the micro determination of nitrogen using the Kjeldahl method of PREGL-PARNASS-WAGNER. For the weighing and the transfer of the samples into Kjeldahl flasks, a small tube as shown in Fig. 3 was used. The tube rests safely on the balance and loss of substance is prevented by the depression in its lower surface and by the shape of its tail. The handle and legs of the tube hold it in the mouth of a Kjeldahl flask so that it is possible to transfer the sample by tapping or using a wash liquid. This device has also been employed in weighing out copper salts for micro electrolysis and may be useful in other connections.

Because of the presence of mercury in the compounds analyzed, it seemed necessary to add sodium sulfide before the distillation of ammonia. The sodium sulfide was always introduced after the digested solution had been made alkaline in the bulb of the distillation apparatus. After each distillation the bulb containing the

[8] T. W. RICHARDS and A. S. CUSHMAN, Proc. Am. Acad., **33**, 97 (1927).

[9] A. HOLLARD and L. BERTIAUX, Metall-Analyse auf electrochemische Weise. Berlin 1906.

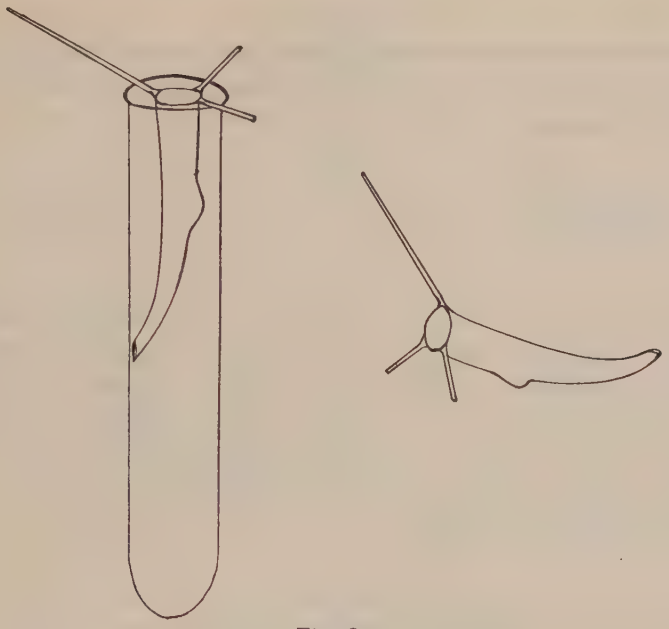


Fig. 3.
Weighing Tube.

residual solutions was carefully rinsed and the complete removal of black mercuric sulfide was used as an indication of the quantitative elimination of sodium sulfide.

About a half gram of potassium mercuri-selenocyanate was prepared for analysis by recrystallizing it several times from absolute alcohol. This salt was first tested for water or alcohol of crystallization by introducing a few milligrams of it into an EMICH fractionation tube. The compound decomposed at a rather low temperature and no condensate of any sort was observed on the walls of the tube. Other samples were analyzed quantitatively for nitrogen, first by the micro-Kjeldahl method and then by the micro-Dumas. From the two possible formulae, $K[Hg(CNSe)_3]$[10] with 7,57% nitrogen and $K_2[Hg(CNSe)_4]$ with 8,00%, the analyses below indicate that the latter formula is correct for the compound.

[10] This formula was suggested by C. A. CAMERON and E. W. DAVY (Chem. News, **44**, 63 (1881), who first prepared the complex salt, but did not analyze it.

Table IV.

	Micro-Kjeldahl	Micro-Dumas
1st analysis	8,17%	—
2nd analysis	8,07%	—
3rd analysis	—	7,90%
Calculated	8,00%	—

The zinc mercuri-selenocyanate used for analysis was precipitated from a dilute solution of zinc nitrate with a freshly prepared, aqueous solution of potassium mercuri-selenocyanate. The precipitate was quickly filtered on a suction pump and washed with small quantities of water. It was sucked dry after each addition of wash liquid. Analysis indicated that $ZnHg(CNSe)_4$ was the correct formula for this compound.

Table V.

	Micro-Kjeldahl
1st analysis	8,40%
2nd analysis	8,47%
Calculated	8,17%

The cadmium complex was precipitated in a manner similar to that employed in preparing the zinc compound. The salt is white and quite stable in the dry state. If the compound corresponds to the formula $CdHg(CNSe)_4$, it will theoretically contain 7,63% nitrogen. The analyses indicate that this is the correct formula.

Table VI.

	Micro-Kjeldahl
1st analysis	7,65%
2nd analysis	7,85%
3rd analysis	7,87%
Calculated	7,63%

Summary.

(1) Potassium mercuri-selenocyanate was prepared and its reactions with the cobaltous, nickelous, ferric, ferrous, manganous, zinc, and cadmium ions were investigated. The limits of identification for these ions were determined.

(2) The behaviouf of mixtures of these ions was investigated and a large number of limiting proportions were determined. This work required the use of specially purified salts for the preparation of test solutions.

(3) Potassium mercuri-selenocyanate was found to be a good reagent in testing the purity of cobalt salts. It may be used as a preliminary test in testing the purity of cobalt compounds intended for standard measurements, e. g., the determination of the atomic weight. Potassium mercuri-selenocyanate forms crystalline precipitates with the copper, nickel, and iron ions whose yellow to brown colors stand out in strong contrast to the blue of cobalt mercuri-selenocyanate.

(4) The composition of potassium, zinc, and cadmium mercuri-selenocyanates were found by the micro-Kjeldahl method to be $K_2Hg(CNSe)_4$, $ZnHg(CNSe)_4$ and $CdHg(CNSe)_4$.

A Note on the Use of Potassium Mercuri-Thiocyanate as a Microchemical Reagent.

By

A. A. Benedetti-Pichler and W. F. Spikes, jr.

Contribution from the Chemical Laboratories of Washington Square College of New York University.

(Eingelangt am 17. Mai 1934.)

Information concerning the reactions between iron salts and potassium mercuri-thiocyanate seems be lacking. M. N. Short[1] states that ferric solutions turn pink upon the addition of potassium mercuri-thiocyanate solutions. E. M. Chamot and C. W. Mason[2] make no mention of reactions between iron salt solutions and potassium mercuri-thiocyanate.

In the present investigation crystals of the potassium mercuri-thiocyanate, half the size of a poppy seed, were added to test droplets of 5 cmm volume.

It was found that ferric salts do yield a blood red coloration upon the addition of the reagent, but in the case of 2.5% ferric ion (chloride) solutions, the color was accompanied by well defined, dark red hexagons. These are almost black in transmitted and reflected light. The hexagons were obtained from neutral solutions and from solutions containing 1—7% free HNO_3.

M. N. Short[3] states that "the potassium mercuri-thiocyanate test for copper is so satisfactory and 'foolproof' that none other is needed." This holds only when the absence of the ferrous ion has been shown by some other test, as potassium mercuri-thiocyanate precipitates yellow clusters of needles from ferrous solutions which might be easily mistaken for the corresponding copper mercuri-thiocyanate. The precipitation of needles occurs immediately from 1% ferrous ion (sulfate) solutions.

---

[1] M. N. Short, Microscopic Determination of the Ore Minerals, U. S. Geological Survey Bulletin 825, page 139.

[2] E. M. Chamot and C. W. Mason, Handbook of Chemical Microscopy, John Wiley & Sons, New York.

[3] M. N. Short, l. c., page 133.

Eine Schnellmikromethode zur Manganbestimmung.

Von

I. M. Korenman,

Odessa, Arbeitsinstitut.

(Eingelangt am 30. Mai 1934.)

1903 ist von M. Marshal[1] festgestellt worden, daß Persulfate bei Gegenwart von Silberionen als Katalysator in saurer Lösung Mangansalze zu Permanganat oxydieren. Diese Reaktion ist so empfindlich, daß sie die Farbe des gebildeten Permanganats, den Nachweis und die Bestimmung von sehr geringen Manganmengen ermöglicht. M. Marshal[1], M. Dittrich[2], E. Schowalter[3]. L. Hartwig und H. Schellbach[4], H. E. Walters[5] vergleichen die Intensität des durch katalytische Oxydation gebildeten Permanganats mit $KMnO_4$-Standardlösungen von bekanntem Gehalt. Von anderen Autoren — J. J. Boyle[6], H. Kunze[7], H. Smith[8], O. Brichant[9] sowie H. E. Walters und E. Schowalter — wird das entstandene Permanganat mit As_2O_3-Lösung bis zur Entfärbung titriert. Die genannten Autoren arbeiten mit großen Manganmengen und nur von L. Hartwig und H. Schellbach sowie

[1] Chem. News, **83**, 76 (1904); zitiert nach F. Treadwell, Lehrbuch d. analyt. Chem. (russ. Ausgabe), **II**, 104 (1918).

[2] Ztschr. anorg. Chem., **80**, 171—173; C., **1913**, I, 1461.

[3] Ztschr. Unters. Nahr.- u. Genußmittel, **26**, 104—108; **27**, 553—562; C., **1913**, II, 902/3; **1914**, 2204/5.

[4] Ztschr. Unters. Nahr.- u. Genußmittel, **26**, 439—442; C., **1913**, II, 2165.

[5] Journ. Amer. chem. Soc., **25**, 392/4 (1903).

[6] C., **1912**, I, 2072.

[7] C., **1913**, I, 62.

[8] Ztschr. analyt. Chem., **52**, 223 (1913).

[9] Ann. Chim. anal., **11**, 124—127 (1906); Journ. chem. Soc., **29**, 397 (1906).

H. Walters werden verhältnismäßig geringe Manganmengen, etwa Zehntelmilligramme — jedoch in einem ziemlich großen Flüssigkeitsvolumen — bestimmt.

Was den Einfluß von anderen Metallen auf diese Bestimmung anlangt, so liegen bezüglich des Einflusses von Eisen widersprechende Angaben vor. Nach E. Schowalter verhindert Eisen in Mengen bis zu 10 mg pro Liter Lösung die Manganbestimmung nicht, nach H. Smith und J. J. Boyle soll Eisen überhaupt nicht stören.

In der vorliegenden Untersuchung wird über zwei von mir ausgearbeitete schnelle und genaue Mikromodifikationen des Marshalschen Verfahrens zur Bestimmung von geringen Manganmengen in kleinen Lösungsvolumina berichtet und der Einfluß anderer Metalle auf diese Bestimmung festgestellt.

In eine Reihe von Probiergläschen von gleichem Durchmesser mit einer 5-ccm-Marke wurden 1 bis 2 ccm der zu untersuchenden Manganlösung, mit je 1 ccm 10%iger $(NH_4)_2S_2O_8$-Lösung, je 0.5 ccm 3 n-HNO_3 und je 1 ccm 0,1 n-$AgNO_3$ versetzt und alle Lösungen mit Wasser bis auf die Marke, das heißt auf 5 ccm, verdünnt. Hierauf wurde durchgeschüttelt, alle Probiergläschen gleichzeitig in ein kochendes Wasserbad gebracht und nach 5 Minuten mit einem kalten Wasserstrahl abgekühlt. Je nach der Manganmenge in der Probe tritt eine mehr oder weniger intensive Rosaviolettfärbung auf. Zum Vergleich wurde ein Reagenzgläschen von demselben Durchmesser mit 5 ccm reinem Wasser beschickt, nebenan das Reagenzgläschen mit violetter Probelösung gestellt und aus einer Mikrobürette so lange tropfenweise 0.01 bis 0.015 n $KMnO_4$ zugesetzt, bis die Färbung in beiden Reagenzgläschen gleich war. Bei Manganmengen unter 0,015 mg wird zur Ausgleichung der Färbungen 0,001 bis 0,0015 n $KMnO_4$-Lösung verwendet. Aus dem aufgebrauchten Volumen der $KMnO_4$-Lösung läßt sich der Mangangehalt in der Probe leicht berechnen.

1 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung entspricht 0,10986 mg Mn.

Beispiel: Es sei zur Ausgleichung der Färbungen 0,34 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung gebraucht worden. In diesem Falle ist die Mangankonzentration in beiden Reagenzgläsern gleich, das Volumen der Probe beträgt aber 5 ccm und das Wasservolumen hat nach Zugabe von $KMnO_4$ 5,34 ccm erreicht.

5,34 ccm enthalten 0,34 ccm 0,01 n $KMnO_4$,
5,00 ccm enthalten x ccm 0,01 n $KMnO_4$.

$$x = \frac{0{,}34 \cdot 5}{5{,}34} = 0{,}318 \text{ ccm}$$

Es ist folglich in der Probe eine Manganmenge enthalten, die 0,318 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung, das heißt 0,318 . 0,10986 = = 0,3493 mg Mn entspricht.

In nachstehender Tabelle sind die Resultate mehrerer Manganbestimmungen wiedergegeben, die nach dem beschriebenen Verfahren in Lösungen von reinem Mangansulfat in Abwesenheit anderer Metalle erhalten wurden.

Manganmenge mg		Differenz	
genommen	gefunden	mg	%
0,0040	0,0038	0,0002	5,0
0,0050	0,0047	0,0003	6,0
0,0060	0,0059	0,0001	1,66
0,0070	0,0069	0,0001	1,43
0,0080	0,0079	0,0001	1,25
0,0095	0,0090	0,0005	5,27
0,0140	0,0141	0,0001	0,71
0,0250	0,0250	—	—
0,0320	0,0323	0,0003	0,94
0,0400	0,0414	0,0014	3,5
0,0500	0,0514	0,0014	2,8
0,0640	0,0627	0,0013	2,03
0,0760	0,0745	0,0015	1,97
0,0840	0,0828	0,0012	1,43
0,0880	0,0889	0,0009	1,02
0,0940	0,0931	0,0009	0,96
0,1000	0,0971	0,0029	2,9
0,1490	0,1470	0,0020	1,34
0,1530	0,1505	0,0025	1,63
0,1840	0,1748	0,0092	5,0

Aus der Tabelle geht hervor, daß das empfohlene Verfahren zur mikrokolorimetrischen Titration von 0,004 bis 0,184 mg Mangan in 1 bis 2 ccm Lösung durchaus befriedigende Resultate liefert. Der absolute Fehler beträgt bei diesen Bestimmungen im Mittel zirka 0,002 mg, der perzentuellen nicht über 6%.

Besagtes Verfahren ermöglicht eine schnelle Ausführung von Manganbestimmungen; fünf parallel angestellte Mangananalysen in Lösungen nahmen etwa 30 Minuten in Anspruch. In diese 30 Minuten ist auch die Zeit mitinbegriffen, die zur Erhitzung und zur Berechnung der Resultate der kolorimetrischen Titrierung erforderlich war.

Zur Bestimmung von Mangan in Gegenwart anderer Metalle wurden in Probierröhrchen bekannte Mengen Mangansalz mit wechselnden Mengen anderer Metallsalze vereinigt, hierauf zur Lösung $(NH_4)_2S_2O_8$, $AgNO_3$ und HNO_3 in dem früher angegebenen Verhältnis zugesetzt, mit Wasser auf 5 ccm verdünnt und des weiteren wie bei der Oxydation reiner Manganlösungen verfahren. Nach Abkühlung wurde die Menge des gebildeten Permanganats (das ist des Mn) durch kolorimetrische Mikrotitrierung bestimmt. Die Resultate sind nachstehend tabellarisch dargestellt.

Verwendet in mg		Verhältnis der Mn··-Menge zur Menge eines anderen Metalls	gefunden Mn mg	Differenz	
Mn··	Zuschlag			mg	%
0,0380	70 mg Fe···	1 : 184	0,0370	0,0010	2,63
0,0500	14 mg Fe···	1 : 280	0,0502	0,0002	0,4
0,0450	14 mg Fe···	1 : 309	0,0458	0,0008	1,77
0,0400	3 mg Fe··	1 : 75	0,0400	—	—
0,0300	3 mg Fe··	1 : 100	0,0312	0,0012	4,0
0,0400	5 mg Fe··	1 : 125	0,0400	—	—
0,0500	3 mg Ni··	1 : 60	0,0502	0,0002	0,4
0,0500	5 mg Ni··	1 : 100	0,0502	0,0002	0,4
0,0500	10 mg Ni··	1 : 200	0,0486	0,0012	2,8
0,0380	8 mg Co··	1 : 210	0,0384	0,0004	1,05
0,0380	10 mg Co··	1 : 263	0,0384	0,0004	1,05
0,0300	12 mg Co··	1 : 400	0,0323	0,0023	7,66
0,0380	11 mg Zn··	1 : 290	0,0384	0,0004	1,05
0,0380	22 mg Zn··	1 : 579	0,0384	0,0004	1,05
0,0350	66 mg Zn··	1 : 1886	0,0356	0,0006	1,71
0,0350	2,85 mg Al···	1 : 81	0,0356	0,0006	1,71
0,0350	5,70 mg Al···	1 : 163	0,0356	0,0006	1,71
0,0350	8,55 mg Al···	1 : 244	0,0339	0,0011	3,14
0,0400	2,50 mg Cu··	1 : 62	0,0400	—	—
0,0300	2,50 mg Cu··	1 : 83	0,0296	0,0004	1,33
0,0400	3,75 mg Cu··	1 : 94	0,0400	—	—
0,0400	5,00 mg Cu··	1 : 125	0,0400	—	—

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die richtige Bestimmung sehr geringer Manganmengen durch einen mehrfachen Überschuß an Fe(III)-, Fe(II)-, Ni-, Co-, Zn-, Al- oder Cu-Salzen nicht beeinflußt wird.

Auch die Bestimmung von Mangan unter einem Gemenge der genannten Metalle liefert gute Werte. In reiner Lösung, die 0.050 mg Mn + 7,0 mg Fe + 4,0 mg Al + 23 mg Zn + 5 mg Ni + 2 mg Co enthält, das heißt 1 Teil Mn in Gegenwart der 820fachen Menge anderer Metalle wurden 0,0514 mg Mn gefunden, was einem Fehler von 28% entspricht.

Nicht anwendbar ist das Verfahren bei Gegenwart von Chromsalzen, da diese unter den Versuchsbedingungen zu Chromat oxydiert werden, dessen Farbe eine exakte Endpunktsbestimmung verhindert.

Zur Manganbestimmung bei Gegenwart von Eisensalzen führte ich die Reaktion in Gegenwart von Phosphorsäure aus, um die Gelbfärbung von Eisensalzlösungen aufzuheben. Zu der mit HNO_3 angesäuerten Lösung kamen einige Tropfen konz. H_3PO_4, dann wurde $(NH_4)_2S_2O_8$, $AgNO_3$ zugegeben und mit 3 n HNO_3 auf 5 ccm verdünnt. Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist auf diese Weise Mangan selbst in Gegenwart der 300fachen Eisenmenge bestimmbar. Ohne Zusatz von Phosphorsäure lassen sich genaue Bestimmungen nur bei einem Verhältnis Mn : Fe kleiner als 1 : 90 ausführen. Das Vorhandensein großer Phosphatmengen behindert die Analyse nicht.

Um eine Beeinträchtigung der Bestimmung durch die Rosafärbung der Lösung von Kobaltsalzen aufzuheben, verfuhr ich bei Vorhandensein dieses Metalls wie folgt: Neben das Reagenzgläschen mit der zu untersuchenden Lösung kam ein solches mit fast gleichem Volumen Wasser und dazu wurde aus einer Kapillarpipette tropfenweise konz. $Co(NO_3)_2$-Lösung bis zur Ausgleichung der Farben gegeben. Hiernach wurde die zu untersuchende Lösung in der beschriebenen Weise behandelt und die Lösung mit dem zugesetzten Kobaltsalze mit Wasser auf 5 ccm verdünnt. Bei der kolorimetrischen Titration wurde dann die Kobaltlösung mit $KMnO_4$ bis zur Farbgleichheit versetzt.

Bei Gegenwart von Bleisalzen wurden diese zunächst mit Schwefelsäure gefällt, die Flüssigkeit mit dem $PbSO_4$-Niederschlag zentrifugiert und in aliquoten Teilen des klaren Zentrifugats das Mangan

bestimmt. Unter Anwendung dieses Verfahrens ließen sich noch bei 600fachen Bleiüberschuß gute Analysenresultate erzielen. Ohne vorhergehende Entfernung des Bleis bildet sich ein schwarzer Niederschlag oder eine Trübung von Bleidioxyd.

Chloride verhindern die Bestimmung, da sie den Katalysator unwirksam machen. In diesem Falle ist ein $AgNO_3$-Überschuß zuzusetzen und nach Zentrifugieren in der klaren Lösung das Mangan zu bestimmen. Bei einer 200- bis 400fachen Menge an Chlorid konnten auf diese Weise Bestimmungen von mehreren Hundertsteln Milligramm Mangan noch mit einer Genauigkeit von 3 bis 4% ausgeführt werden.

Über Rubeanwasserstoff als Mikroreagens auf die Elemente der Platin-Gruppe.

Von

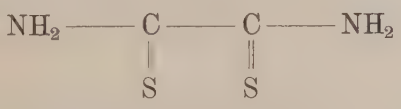
H. Wölbling und B. Steiger.

(Eingelangt am 22. Mai 1934.)

Thioharnstoff[1] gibt in salzsaurer Lösung mit Rutheniumsalzen beim Erwärmen eine intensive Blaufärbung, mit Osmiumsalzen[2] eine intensive Rosa- bis Bordeauxfärbung. Ähnliche Farbreaktionen zeigen auch Allylthioharnstoff[1] und Thiocarbanilid[3].

Es war daher zu vermuten, daß der Farbeffekt auf eine $>C=S$-Gruppe, die ein- oder beidseitig an NH_2, bezw. NHR gebunden ist, zurückzuführen sei. Demnach müßten auch andere Verbindungen als Thioharnstoff und dessen Derivate, welche diese Gruppierung enthalten, mit Ru- und Os-Salzen Farbreaktionen zeigen. Ebenso war anzunehmen, daß bei mehrfacher Anwesenheit dieser wirksamen Atomgruppe in einem Molekül eine größere Empfindlichkeit zu erreichen ist.

Um über die Farbreaktionen dieser $C=S$-Gruppierung mit Platinmetallen allgemeine Kenntnisse zu gewinnen, wurden Versuche mit substituierten Thioharnstoffen und ähnlichen Derivaten sowie mit Rubeanwasserstoff angestellt. Letzterer schien für das Studium dieser $C=S$-Reaktionen besonders geeignet, da er diese charakteristische Gruppe doppelt enthält:



[1] S. C. Ogburn jun., Journ. Amer. chem. Soc., **48**, II, 2493 (1926).

[2] L. Tschugaeff, C. r. Acad. d. scien., **167**, 235 (1918); Ztschr. anorg. Chem., **148**, 65 (1925).

[3] L. Wöhler und L. Metz, Ztschr. anorg. Chem., **138**, 368 (1924).

Zunächst sei über die Reaktionen dieser Verbindung berichtet.

Wie wir erwarteten, reagierte Rubeanwasserstoff mit Rutheniumsalzen beim Kochen in salzsaurer Lösung unter Bildung einer tiefblauen, mit Wasser mischbaren Lösung, welche die Thioharnstoffblaufärbung an Empfindlichkeit erheblich übertrifft. In der Kälte verläuft die Reaktion nur langsam; bei Zimmertemperatur trat der Farbumschlag beispielsweise erst nach Tagen ein. In Anwendung kam eine 0,2%ige Lösung von Rubeanwasserstoff in Eisessig[4]. Zur Ausführung der Reaktion gibt man zu einer neutralen oder sauren Rutheniumsalzlösung einige Tropfen Rubeanwasserstofflösung und erwärmt; es entsteht eine tiefblaue bis schwarzblaue Färbung: bei größeren Rutheniummengen beobachtet man nach einiger Zeit Bildung eines schwarzblauen Niederschlages. Mit sehr geringen Ru-Mengen erhält man nur eine smaragdgrüne Färbung. Anwesenheit von Säure beschleunigt bereits bei Spuren den Farbumschlag nach Blau; in alkalischer Lösung tritt die Blaufärbung nicht ein.

Im Reagenzglasversuch sind (bei Anwesenheit von 1 bis 2 Tropfen HCl) 0,2 γ Ru noch deutlich erkennbar.

Bei noch stärkerer Verdünnung tritt die Blaufärbung beim Eingengen auf dem Wasserbade ein; ein eventuell entstandener dunkler Niederschlag rührt von überschüssigem Rubeanwasserstoff her, der durch die blaue Lösung dunkel gefärbt ist.

Wie erwähnt, entsteht die blaue Lösung auch bei Abwesenheit von Säure, allerdings dann dementsprechend langsamer. So z. B. bei Anwendung einer Lösung von Rubeanwasserstoff in Äthylalkohol oder Äther. Auch beim Kochen neutraler wäßriger Rutheniumsalzlösung mit festem Rubeanwasserstoff erhält man die Farbreaktion.

Der Nachweis ist streng spezifisch und eindeutig für Ruthenium, da die anderen Platinmetalle keine Farbreaktion liefern. Weiterhin ist der Nachweis von Ruthenium mit Rubeanwasserstoff viel empfindlicher als der mit Thioharnstoff oder Thiocarbanilid. Über das Ver-

[4] Rubeanwasserstoff (Präparat von Dr. Fraenkel und Dr. Landau) wird in der Wärme in Eisessig gelöst und filtriert. Die Lösung ist auch nach längerem Stehen verwendbar und wird durch Salzsäure oder Laugen nicht verändert, durch Salpeter- oder Phosphorsäure getrübt infolge Schwefelabscheidung.

Als Ru-Salz kam eine wäßrige, neutrale Ru-Chloridlösung in Anwendung.

halten der blauen Lösung ist noch zu berichten, daß Alkalien eine braune Verfärbung geben, die Lösung wird hellbraun; nach Zugabe starker Säure erscheint die blaue Farbe wieder.

Die blaue Lösung ist leicht mischbar mit Wasser und Alkohol, schwer löslich in Äther und Äthylazetat, unlöslich in Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

P. Ray[5] nimmt in der Lösung von Rubeanwasserstoff ein Gleichgewicht von sym. Dithiooxamid (I) und sym. Diimido-dithiooxal-Säure (II) an; bei diesem verhält sich nur die Sulfhydratform (II) wie eine Säure, deren ionogen gebundenes Wasserstoffatom durch verschiedene Metalle, wie Kupfer, Nickel oder Kobalt, ersetzt werden kann. Durch Säurezusatz wird das Gleichgewicht nach links verschoben unter Bildung der undissoziierten Thioketoform (I).

$$\underset{\text{I}}{\begin{matrix} S=C-NH_2 \\ | \\ S=C-NH_2 \end{matrix}} \rightleftarrows \underset{\text{II}}{\begin{matrix} HS-C=NH \\ | \\ HS-C=NH \end{matrix}} \rightleftarrows 2\,H^{\bullet} + \begin{bmatrix} S-C=NH \\ | \\ S-C=NH \end{bmatrix}''$$

Für die Frage nach der Konstitution der bei der Umsetzung zwischen Rutheniumsalzen und Rubeanwasserstoff entstehenden Verbindung dürfte die Feststellung von Belang sein, daß Tetramethylrubeanwasserstoff[6] mit Ru-Salzen nicht mehr reagiert. Weiter ist zu berücksichtigen, daß sowohl die beschriebene Ru-Reaktion wie auch die Fällung von Platin- und Palladiumsalzen durch Rubeanwasserstoff (siehe unten) nicht momentan erfolgt, sondern daß eine gewisse Zeit zur Umsetzung erforderlich ist. Diese Beobachtungen ließen vermuten, daß es sich um innerkomplexsalzartige Verbindungen handeln könne, zumal die aus salzsaurer Lösung gefällten Verbindungen nur Spuren Chlor enthalten und somit keine Additionsverbindungen darstellen.

Für die Osmium-Thioharnstoffverbindung hat L. Tschugaeff[7] die Formel $[Os(H_2NCSNH_2)_6]Cl_3 \cdot H_2O$ aufgestellt, die den Luteo-Chromsalzen vom Typus $[Cr(NH_3)_6]X_3$ analog ist.

In diesem Zusammenhang ist noch zu erwähnen, daß die Ru- und Os-Reaktionen mit Thioharnstoff nicht nur mit konz. HCl ein-

[5] Ztschr. analyt. Chem., **79**, 94 (1930); C., **1929**, I, 100, 2020.

[6] Dargestellt aus Rubeanwasserstoff und Dimethylamin in alkoholischer Lösung.

[7] C., **1918**, II, 1081.

treten, sondern auch mit anderen Säuren, wie Eisessig; diese Lösungen verblassen aber nach kurzem Stehen.

Über weitere Untersuchungen betreffend die Ru-spezifische Gruppe in substituierten Thioharnstoffen. Thio-Semicarbaziden sowie zyklischen Verbindungen ähnlicher Art wird noch berichtet. Vorwegnehmend läßt sich sagen, daß Ru-Chlorid auch als typisches Reagens auf verschiedene aliphatische Verbindungen, welche die eingangs erwähnte Atomgruppierung aufweisen, zu verwenden ist.

Von den übrigen Elementen der Platingruppe liefern Platin- und Palladiumsalze empfindliche Fällungsreaktionen mit Rubeanwasserstoff. Bei Iridium und Rhodiumsalzen konnten keine bemerkenswerten Reaktionen beobachtet werden.

Reaktionen von Rubeanwasserstoff mit Pd- und Pt-Salzen.

Versetzt man eine Palladiumchlorürlösung mit einer Lösung von Rubeanwasserstoff in Eisessig, so entsteht ein dunkelroter Niederschlag, der aus kleinen seidenglänzenden Nadeln besteht.

Bei Anwesenheit von Salzsäure fällt ein feuerroter, ebenfalls seidenglänzender Niederschlag (s. Abb.), der die gleiche Kristallform wie der dunkelrote Niederschlag zeigt; beide Formen zeigen völlig gleiche Reaktionen, sind also identisch. Die Fällung tritt auch unter Eiskühlung ein.

Versetzt man eine Palladiumsalzlösung in der Siedehitze mit alkoholischem Rubeanwasserstoff, so entsteht zunächst nur eine Gelbfärbung und nach zirka 12 Stunden Stehens scheidet sich das Pd-Salz in Form langer, wohlausgebildeter, roter Kristallnadeln (bis 6 mm) ab. Die Fällung ist nach kurzem Stehen quantitativ. Die zuerst entstandene Gelbfärbung ist in Essigsäureäthylester löslich, der Niederschlag darin nur sehr schwer.

Da der Niederschlag nicht voluminös ist, eignet er sich gut zur gravimetrischen Bestimmung kleiner Palladiummengen. Das Auswaschen geschieht mit konz. und anschließend verdünnter Salzsäure, worin er vollkommen unlöslich ist. Nach dreistündigem Trocknen bei 110° kann er zur Wägung gebracht werden. Als sehr praktisch erwiesen sich bei diesen Arbeiten die Mikrogooch-Tiegel.

Anwesenheit von Ruthenium stört nicht: zur Pd-Bestimmung zentrifugiert man den roten Niederschlag ab, die überstehende Flüssigkeit zeigt nach Erwärmen Ruthenium durch seine Färbung an.

Die dann meist smaragdgrüne Ru-Lösung wird bei Ausschütteln mit Essigäthylester blau.

Der Palladiumniederschlag wird auf dem Filter an der Luft braun, beim Auswaschen mit Wasser gelb, bei Zugabe eines Säuretropfens oder beim Anblasen mit Säuredämpfen wieder rot.

Beim trockenen Erhitzen tritt Zersetzung unter SO_2-Entwicklung ein; der Rückstand besteht aus metallischem Palladium.

In Ammoniak und Laugen ist die Verbindung mit gelber Farbe löslich, mit Säuren daraus wieder fällbar. Die alkalische Lösung ist mit organischen Solventien nicht ausschüttelbar. In starken Säuren ist er unlöslich, in konz. Schwefelsäure mit tiefroter Farbe löslich, fällt jedoch beim Verdünnen wieder aus. Salpetersäure ruft Zersetzung hervor. In gelbem Schwefelammon löst sich das Palladiumsalz mit tiefroter Farbe, Säuren fällen es aus der Lösung wieder; mit Chlorwasser tritt oberflächlich Gelbfärbung, jedoch ohne Lösung ein. Der Niederschlag enthält nur Spuren Chlor.

Sein Pd-Gehalt beträgt 30%. Das entspricht dem Pd-Gehalt einer Verbindung folgender Zusammensetzung: $C_2S_2N_2H_2Pd$ + 1 Mol. Rubeanwasserstoff (30,9% Pd).

Die Empfindlichkeit der Pd-Reaktion läßt sich noch bedeutend erhöhen durch Arbeiten mit Seidenfaden, Kapillare[8], oder als Tüpfel-

[8] Ztschr. analyt. Chem., **79**, 94 (1930).

reaktion auf imprägniertem Papier nach F. Feigl oder Rubeanwasserstoffgelatine nach J. Winckelmann.

Versetzt man eine Platinchlorwasserstofflösung mit Rubeanwasserstoff, so entsteht zuerst eine tiefrote Färbung, die bald braunrote, amorphe Flocken abscheidet; die überstehende weinrote Flüssigkeit enthält noch Platin und ist in Essigäthylester löslich.

Bei Gegenwart von Salzsäure entsteht nach vorübergehender Rotfärbung eine Ausfällung kleiner rotvioletter, seidenglänzender Nädelchen (grüner Flächenschimmer). Nach zirka 3 Stunden Absitzen in der Wärme ist die Fällung quantitativ. Es ist hierbei etwa sechsfacher Überschuß des Fällungsmittels nötig, die überstehende Flüssigkeit zeigt dann nur die Eigenfarbe der Rubeanwasserstofflösung. Größere Kristallnadeln — wie beim Pd-Salz — erhält man bei Anwendung alkoholischer Rubeanwasserstofflösung in Gegenwart von Salzsäure in der Wärme, die Kristalle bilden sich dann nach zirka 24 Stunden.

Bei Gegenwart von Schwefelsäure erhält man nur eine amorphe Fällung.

Die Fällung tritt auch mit anderen komplexen Pt-Salzen ein, z. B. mit H_2SO_3-haltigen Pt-Salzlösungen.

Der mit Rubeanwasserstoff erhaltene Niederschlag ist in Ammoniak und Alkalien mit braungelber Farbe leicht löslich und mit Säuren daraus wieder fällbar. In verdünnten und konzentrierten Säuren ist der Niederschlag unlöslich. Eine Überprüfung des Verhaltens gegen organische Solventien zeigte ziemlich leichte Löslichkeit in Methyl- und Äthylalkohol, geringe Löslichkeit (mit brauner Farbe) in Essigäthylester und Unlöslichkeit in Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Äther. Nach Feigl[9] dürfte in essigsaurer Lösung von Rubeanwasserstoff eine Halbaci-Form

$$S = C - NH_2$$
$$|$$
$$HN = C - SH$$

vorliegen mit der Fähigkeit, Innerkomplexsalze zu bilden.

Fällt man die salzsaure Platinlösung unter Eiskühlung, so tritt nur die tiefrote Färbung auf, die Fällung wird außerordentlich verzögert (zirka 3 Stunden), Pd- fällt unter den gleichen Bedingungen fast sofort quantitativ.

Der Pt-Gehalt der Fällung wurde zu 36,7% gefunden.

[9] Frdl. Privatmitteilung.

Das dem Pd-Salz analoge Pt- (IV) Salz von folgender Zusammenstellung hätte einen Pt-Gehalt von 35,9%

+ 1 Mol. Rubeanwasserstoff.

Osmiumsalzlösungen zeigen mit Rubeanwasserstoff keine wesentliche Farbveränderung, bei größeren Mengen färbt sich der Äthylessigester beim Ausschütteln braun. Silber-[10] und, wie wir fanden, auch Thalliumsalze des Rubeanwasserstoffes gehen alsbald in die Sulfide über.

[10] Pr. und R. Ray, C., **1926**, II, 2158.

Eine Apparatur zur Herstellung von doppelt-destilliertem Wasser.

Von

F. Rappaport.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität und dem S.-Canning-Childs-Spital und Forschungsinstitut in Wien.

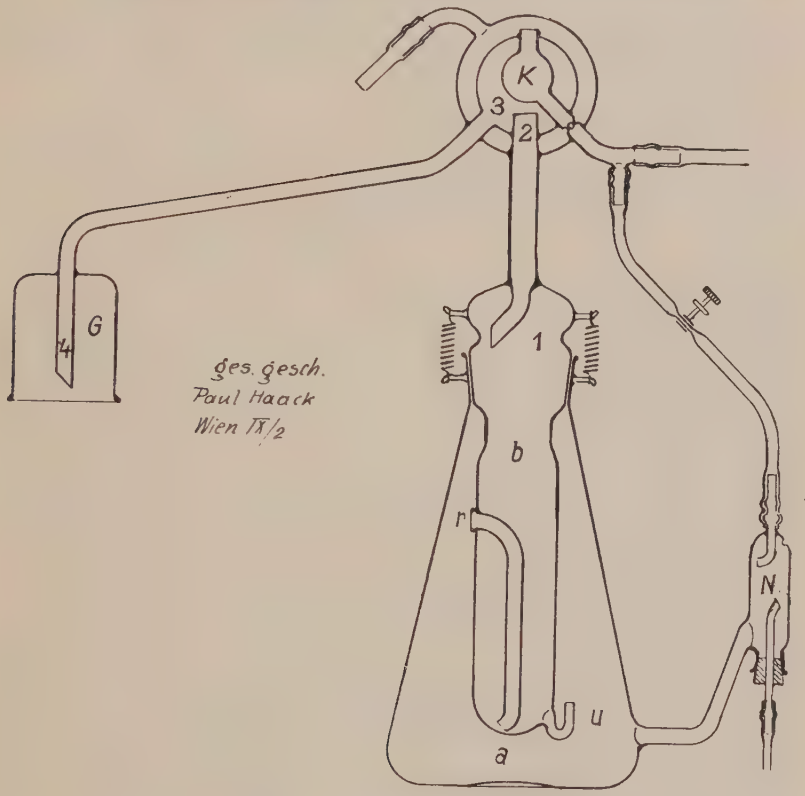
(Eingelangt am 14. Mai 1934.)

Für chemische und biologische Untersuchungen ist vielfach die Verwendung von mehrfach destilliertem Wasser erforderlich, da es bekanntlich nicht gelingt, bei einfacher Destillation ein Wasser zu erhalten, das frei von Spuren gelöster Stoffe ist. Ein Kriterium für die Reinheit des Wassers ist dessen spezifische elektrische Leitfähigkeit und deren Messung ermöglicht es daher, ein Wasser auf seine Reinheit zu prüfen.

Im nachfolgenden sei ein einfacher Apparat beschrieben, mit dessen Hilfe es gelingt destilliertes Wasser zu gewinnen, dessen spezifische Leitfähigkeit $\varkappa = 1{,}5 \cdot 10^{-6}$ beträgt.

Der Apparat besteht aus zwei ineinanderpassenden Destillationsgefäßen a und b, von denen a durch eine Gasflamme oder elektrisch, b durch den in a entwickelten Wasserdampf erhitzt wird. Der äußere Kolben (a) ist, wie nachstehende Abbildung zeigt, mit einer Niveauvorrichtung (N) verbunden, welche durch einen kontinuierlichen Wasserzulauf (durch den abklemmbaren Zuführungsschlauch) einen Ersatz des in a verdampfenden Wassers ermöglicht. Bei Erhitzung des äußeren Kolbens gelangt der Wasserdampf durch das Rohr (r) in das innere Destillationsgefäß (b) und von dort über 1 und 2 in den Kugelkühler (K). Durch die Kondensation im Kühler rinnt ein Teil als Vorlauf — einfach destilliertes Wasser — bei 3—4 ab. Ein anderer Teil rinnt nach Kondensation im Glasrohr 1—2 in das Gefäß (b) zurück und kondensiert sich dort, wodurch der un-

tere Teil von b bis zur Höhe des Abflußrohres u konstant mit Wasser gefüllt bleibt. Die andauernde Erwärmung — einerseits durch den von r einströmenden Dampf, anderseits durch den Dampf im Kolben a — bewirkt neuerliche Destillation. Das Abflußrohr u wirkt gewissermaßen als Ventil, indem das Kondenswasser, welches nicht zur zweiten Destillation kommt, abrinnt, wodurch ein kon-



stanter Druck und regelmäßiges Sieden erzielt wird. Das innere Gefäß b ist durch Schliff und elastische Drahtspiralen mit a verbunden und trägt direkt angeschmolzen den doppelten Kugelkühler. Dadurch wird der Apparat sehr handlich und kann an einem Stativ befestigt werden.

Durch geeignete Ausmessung[1] können mit Hilfe dieses einfachen

[1] Der Apparat wird von der Firma P. Haack, Wien, IX., geliefert.

Apparates etwa 6 bis 8 Liter pro Tag gewonnen werden. Nach Regulierung des Zuflusses ist keinerlei weitere Aufsicht notwendig.

Die nachstehende Tabelle enthält die Leitfähigkeitsdaten verschiedener Wasserproben[2]; es ist daraus ersichtlich, daß das in unserem Apparat gewonnene Wasser hinsichtlich seiner Reinheit dem von KOHLRAUSCH[3] empfohlenen Leitfähigkeitswasser entspricht.

Spezifische Leitfähigkeit verschiedener Wasserproben.

Theoretischer Wert, berechnet aus den Ionenbeweglichkeiten:	$\varkappa = 0{,}038 \cdot 10^{-6}\ \Omega^{-1}\ \mathrm{cm}^{-1}$
Nach KOHLRAUSCH-HEYDWEILLER, Hochvakuumdestillation in das Meßgefäß:	$\varkappa = 0{,}042 \cdot 10^{-6}$
I. Chem. Univ.-Lab., Destillation mit Quarzapparatur im Stickstoffstrom:	$\varkappa = 0{,}1 \cdot 10^{-6}$
Nach KOHLRAUSCH, „bestes Wasser", Destillation in Luft:	$\varkappa = 0{,}7 \cdot 10^{-6}$
KOHLRAUSCH, „gutes Wasser" für Leitfähigkeitsmessungen:	$\varkappa = 1{,}5 \cdot 10^{-6}$
Doppeldestillationsapparat, Leitungswasserdestillation im Luftstrom:	$\varkappa = 1{,}5 \cdot 10^{-6}$
I. Chem. Univ.-Lab., doppelte Destillation; zweite Destillation im Stickstoffstrom:	$\varkappa = 3{,}0 \cdot 10^{-6}$
„Destilliertes Wasser", Röhrenleitung im Laboratorium:	$\varkappa = 10{,}0 \cdot 10^{-6}$

[2] Ich danke auch an dieser Stelle Herrn cand. chem. A. FINK für die Durchführung der Leitfähigkeitsmessungen.

[3] E. KOHLRAUSCH und L. HOLBORN: Das Leitvermögen der Elektrolyte 2. Aufl., Leipzig 1916.

Über eine neue Modifikation der Folin'schen Harnsäurebestimmungsmethode.

Von

E. Herzfeld.

Aus dem Mediz.-chem. Institut der Mediz. Universitätsklinik Zürich.

(Eingelangt am 22. Juni 1934.)

Unter den bisher gebräuchlichen Harnsäurebestimmungsmethoden ist diejenige von O. Folin und seinen Mitarbeitern[1] beschriebene am meisten verbreitet. Zahlreiche Modifikationen der Methode sind sowohl von Folin wie auch von andern Autoren empfohlen worden. So hat Verf. ebenfalls eine solche vorgeschlagen[2], bei welcher die mit dem Folin'schen Reagens außer Harnsäure reagierenden Stoffe, wie Tyrosin und Phenole, mitberücksichtigt worden sind. Die Harnsäure wurde mit diesen Stoffen im nativen Urin bestimmt, sodann in einer andern Portion durch Kochen in alkalischer Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd zerstört und aus der Differenz kolorimetrisch ermittelt. Mit dieser Methode wurden jahrelang sowohl im Urin wie im Blut und andern Körperflüssigkeiten Harnsäurebestimmungen ausgeführt. Die im Blut erhaltenen Harnsäurewerte fielen durchweg höher aus als diejenigen nach den andern oben erwähnten Methoden. So z. B. bewegen sich die nach den andern Methoden erhaltenen Normalwerte zwischen 2,5 und 5 mg%, wogegen die mit Hilfe von Verf. ausgearbeiteten um 10 mg% liegen.

In vorliegender Arbeit möchte Verf. an Hand von Versuchen aufklären, woher diese Diskrepanz kommt. Gleichzeitig soll eine

[1] (Vgl. Journ. of biol. Chem., **86**, 179 (1930).

[2] E. Herzfeld u. R. Klinger, Biochem. Ztschr., Bd. 88, H. 4, S. 284 (1918), E. Steinberger, Inaug. Diss. Zch. (1920), H. Hotz, Inaug. Diss. E. T. H. Zch. (1922).

Modifikation der FOLIN'schen Harnsäurebestimmungsmethode beschrieben werden, welche in einfacher Weise die zuverlässige und exakte Bestimmung der Harnsäure in allen Körperflüssigkeiten gestattet.

Erforderliche Reagenzien:

1. Harnsäurereagens n/FOLIN[3].

100 g wolframsaures Natrium
20 g Phosphormolybdänsäure
50 ccm 84% Phosphorsäure (D = 1,704)
750 ccm Wasser

werden in einem Rundkolben am Rückflußkühler fünf bis sechs Stunden lang gekocht. Die Flüssigkeit wird allmählich dunkelolivgrün. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser auf 1000 ccm verdünnt.

2. Gesättigte, wäßrige Sodalösung.

3. Uranlösung nach FOLIN-SCHAFFER für Urinuntersuchungen zur Ausfällung gewisser bei der Permanganattitration störender Stoffe.

500 g Ammonsulfat
5 g Uranylacetat
60 g 10%ige Essigsäure
650 g Wasser.

4. n/100 Kaliumpermanganatlösung.

5. Tyrosin-Vergleichslösung.

0,1 g Tyrosin
0,1 g Lithiumcarbonat

werden in zirka 50 ccm Wasser erhitzt, bis das Tyrosin völlig in Lösung geht. Hierauf wird abgekühlt und genau bis 100 ccm mit Wasser aufgefüllt. Die Lösung unter Toluol aufbewahrt, ist jahrelang haltbar.

Wie aus den oben erwähnten Arbeiten von Verf. und seinen Mitarbeitern hervorgeht, wurden in der Folge nicht Harnsäure, sondern Tyrosinvergleichslösungen angewendet. Die Harnsäurevergleichslösungen blassen nämlich rasch ab, während Tyrosinlösungen noch innerhalb einer Stunde ziemlich konstant bleiben. Zur

[3] Journ. of biol. Chem., **60**, 472 (1924).

Herstellung solcher Vergleichslösungen pipettiert man je 1 ccm = = 1 mg der Lösung in einen Meßzylinder, versetzt mit 5 ccm vom Harnsäurereagens, vermischt, fügt 50 ccm der gesättigten Sodalösung hinzu, füllt mit destilliertem Wasser bis 50 ccm auf, vermischt und filtriert schließlich nach einigen Minuten durch ein Doppelfilter. Die Blaufärbung einer Harnsäurelösung, enthaltend 1 mg in 100 ccm, ist schwächer wie diejenige einer solchen Lösung von Tyrosin.

Der Umrechnungsfaktor beträgt bei Anwendung von Tyrosin als Vergleichslösung 1,45, ein Wert, welcher durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt werden konnte. Die geringste Harnsäuremenge (im Vergleich mit dem Leerversuch), welche mit obiger Methode eben noch meßbar ist, beträgt 0,3 mg.

Bei der Ausführung der Harnsäurebestimmung in Körperflüssigkeiten war es zunächst von großer Bedeutung, eine Methode anzuwenden, bei welcher die ausgefällten Eiweißkörper nicht auch zugleich mitausgefallene Harnsäure mitreißen. Bei der Enteiweißung nach Folin-Wu wird 1 Teil Blut, 7 Teile Wasser mit 1 Teil 10%iger Natriumwolframatlösung vermischt und dann tropfenweise mit 1 Teil 2/3 n-Schwefelsäure versetzt. Daß hierbei die Harnsäure zum großen Teil ausgefällt wird, kann in folgender Weise nachgewiesen werden:

0.2 g Harnsäure + 0,2 g Lithiumcarbonat werden mit 50 ccm Wasser vermischt und bei Zimmertemperatur mit einem Glasstab solange verrührt (zirka 5 Minuten), bis völlige Auflösung eintritt. Sodann wird mit Wasser bis 100 ccm ergänzt. 1 ccm dieser Lösung enthält 2 mg Harnsäure. Man setzt z. B. folgende Proben an: 10ccm der Harnsäurelösung = 20 mg werden mit 10 ccm Natriumwolframat und tropfenweise mit 10 ccm 2/3 n-Schwefelsäure vermischt, etwa 5 Minuten geschüttelt und dann noch 5 Minuten stehengelassen. Es scheiden sich reichlich Kristalle ab. Vom Filtrat werden je 1,5 ccm = 0,5 ccm der Ausgangslösung sowohl titrimetrisch wie auch kolorimetrisch auf Harnsäure geprüft. Es konnte festgestellt werden, daß Harnsäurelösungen bei Anwesenheit von Folin's Reagens mit n/100-Permanganatlösung titriert werden können, wobei die Harnsäure völlig zerstört wird. Im Leerversuch, 10 ccm + 5 ccm Reagens verbraucht man bis zum Farbenumschlag (Verschwinden der Grünfärbung und Erscheinen eines rötlichen

Schimmers an der Oberfläche) 0,2 ccm. Für 1 mg Harnsäure beträgt der Verbrauch im Mittel 1,66 ccm n/100-Permanganatlösung. Bei der Titration der angesetzten Harnsäurelösungen konnte ein Mittelwert von 0,59 ccm gefunden werden. Zieht man hiervon den Leerwert von 0,2 ccm ab, so entspricht der verbleibende Anteil einer Harnsäuremenge von 0,26 mg, das heißt nur 26% vom Ansatz. Solche tritrierte Lösungen bleiben nach Zusatz von 50 ccm der Sodalösung, Auffüllen bis 100 ccm mit Wasser, Vermischen und Filtrieren völlig farblos. Führt man den gleichen Versuch mit 1 mg Tyrosin aus, so erscheint auch nach der Permanganatoxydation und Alkalisieren mit Soda die vom Tyrosin hervorgerufene blaue Farbe wieder, und zwar in kolorimetrisch nachweisbar gleicher Intensität wie die nicht oxydierte Tyrosinlösung. Auch in Harnsäure-Tyrosinmischungen tritt diese Eigenschaft deutlich hervor. Dagegen zeigten die nicht titrierten Harnsäurelösungen mit 5 ccm Reagens + 50 ccm Sodalösung (Auffüllen bis 100 ccm, Vermischen und Filtrieren) beim Vergleich mit der Tyrosinlösung im Kolorimeter eine ihrer Menge stets proportionale blaue Farbe. Im obigen Falle konnten nur Bruchteile der zugesetzten Harnsäure wiedergefunden werden. Bei der Einstellung der in gleicher Weise wie oben angegebenen, mit dem Reagens bereitgestellten Tyrosinlösung auf 0,5 mm mußte von dieser hellblauen Harnsäurelösung eine 10-mm-Schichtdicke gewählt werden, um Farbengleichheit zu erzielen. Die Berechnung erfolgt nach der Formel, daß die Schichtdicken mit den gelösten Stoffmengen umgekehrt proportional sind.

$$10\text{ mm} : 0.5\text{ mm} = 1\text{ mg} : X \qquad X = \frac{0{,}5 \cdot 1}{10} = 0{,}05\text{ mg Tyrosin.}$$

Multipliziert man diese Zahl mit dem Umrechnungsfaktor von Tyrosin auf Harnsäure, 1,45, so erhält man den Wert von 0,073 mg, das heißt, es ist bis auf 7,3% die Harnsäure ausgefällt worden. Bei verschiedenen Ansätzen fällt die Harnsäure ganz ungleichmäßig aus, am reichlichsten dürfte die Ausfällung bei Anwesenheit von Eiweiß erfolgen.

Diese Versuche zeigen, daß bei der Enteiweißung nach Folin-Wu ein Teil der Harnsäure mit dem Eiweißniederschlag ausgefällt wird.

Es war beabsichtigt, die Serienuntersuchungen sowohl durch Permanganattitration als auch auf kolorimetrischem Wege auszu-

führen. Leider waren die titrimetrischen Werte sehr ungleichmäßig und zeigten kleine Differenzen nur sehr undeutlich an. Dagegen erwies sich das kolorimetrische Verfahren als äußerst exakt und die erhaltenen Werte mit reinen Harnsäurelösungen entsprechen sehr häufig der theoretischen Menge.

Das Problem, eiweißhaltigen Körperflüssigkeiten die Eiweißkörper ohne Harnsäureverluste auszufällen, fand eine überraschende Lösung durch den Befund, daß die Enteiweißung mit dem Harnsäurereagens selbst ausgeführt werden kann. Es scheint sich hierbei um eine im Überschuß vom Reagens lösliche komplexe Verbindung der Harnsäure zu handeln, welche durch einfaches Auswaschen aus dem Eiweißkoagulum quantitativ herausgelöst werden kann. Hierdurch sind die Grundlagen für exakte quantitative Harnsäurebestimmungen geschaffen. Man geht hier folgendermaßen vor: 2 ccm der zu prüfenden Körperflüssigkeit werden mit 10 ccm Harnsäurereagens tropfenweise versetzt, geschüttelt, filtriert, der Eiweißniederschlag wiederholt nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden vermischt, halbiert, die eine Hälfte tropfenweise unter Umschütteln mit n/100-Permanganatlösung bis zum Farbenumschlag versetzt, wodurch die Harnsäure quantitativ zerstört wird. Sodann werden beide Hälften mit Soda alkalisiert, bis 100 ccm mit Wasser ergänzt, filtriert und kolorimetriert.

Zur Ausführung einer Harnsäurebestimmung im Urin scheint es zweckmäßig, die von FOLIN und SCHAFFER empfohlene Vorbehandlung mit der Uranlösung anzuwenden. Es gelingt ausnahmslos, nicht nur die im Urin vorhandenen, sondern die ihm zugesetzten Harnsäuremengen quantitativ zu erfassen. Durch dieses Reagens scheint es möglich zu sein, unbekannte, bei der Harnsäurbestimmung störende Stoffe zu entfernen. Folgendes Beispiel möge illustrieren, wie man die dem Urin zugesetzte Harnsäuremenge kolorimetrisch ermitteln kann: 10 ccm Urin werden mit 5 ccm einer 0,2%igen Lithiumcarbonatlösung und 2,5 ccm Uranlösung vermischt und einige Minuten stehengelassen. Daneben werden nochmals 10 ccm vom gleichen Urin mit 5 ccm einer 0,2%igen Harnsäure-Lithiumcarbonatlösung und ebenfalls 2,5 ccm Uranlösung angesetzt. Beide Urinmischungen werden hierauf filtriert und von den Filtraten je 1,75 ccm (= 1 ccm Urin) mit 10 ccm

Harnsäurereagens vermischt und durch ein kleines 7-cm-Filter filtriert. (Schleicher u. Schüll 604).

In 2,5-ccm-Portionen wird mit Wasser zehnmal nachgespült, bis das Filtrat farblos erscheint. Die Menge der vereinigten Filtrate wird mit Wasser bis 40 ccm ergänzt, vermischt und die Hälfte in einen andern (100 cm fassenden) Meßzylinder pipettiert. Jede Probe entspricht 0,5 ccm Urin. Man versetzt die eine Probe tropfenweise mit einer n/100-Kaliumpermanganatlösung unter Umschütteln, bis die grasgrüne Färbung der Flüssigkeit verschwindet und an der Oberfläche ein rötlicher Schimmer erscheint. Sodann wird diese und die nicht oxydierte Mischung mit 50 ccm der gesättigten Sodalösung versetzt, mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt, vermischt, nach zirka 5 Minuten Stehen durch Doppelfilter filtriert und im Kolorimeter mit einer frisch hergestellten Tyrosinlösung (1 mg Tyrosin + 5 ccm Harnsäurereagens + 50 ccm Soda, ad 100 ccm mit Wasser, filtriert) verglichen, und zwar füllt man in den einen Becher des Kolorimeters die zu prüfende Lösung und stellt eine Schichtdicke von 10 mm, bei schwach blauen Lösungen 50 mm ein. Sodann füllt man in den andern Becher die Tyrosinvergleichslösung und sucht diejenige Schichtdicke ab, bei welcher Farbengleichheit zu konstatieren ist. Die erhaltenen Werte werden am einfachsten für 10 mm der unbekannten Lösung angegeben. Es wurden abgelesen: Die mit Permanganat oxydierte Urinprobe bei 50 mm eingestellt, ergab mit der Vergleichslösung bei 4,5 mm Übereinstimmung, welcher Wert, auf 10 mm Schichtdicke umgerechnet, 0,9 mm entspricht. Die nicht oxydierte Urinprobe aber zeigte bei Einstellung auf 10 mm Schichtdicke Farbengleichheit bei 6,0 mm. Ebenso wurden die beiden Urinportionen mit Harnsäurezusatz eingestellt, wobei die umgerechneten Schichtdicken von 1,2 und 9,8 mm erhalten. Rechnet man, wie oben angegeben, die entsprechenden Harnsäurewerte aus, so erhält man 7,39 mg Harnsäure in 0,5 ccm nativem Urin, 12,4 mg in 0,5 ccm des mit Harnsäure versetzten Urins. Diese Werte entsprechen 147,9 mg% im nativen Urin und 248,0 mg% im mit 100 mg Harnsäure versetzten Urin. Es sind also von der zugesetzten Harnsäuremenge nahezu 100% wiedergefunden worden.

Nach dem oben beschriebenen Verfahren können Blut und auch andere eiweißhaltige Körperflüssigkeiten untersucht werden, mit dem Unterschied, daß bei solchen die Vorbehandlung mit der Uran-

lösung unr dann notwendig ist, wenn solche Flüssigkeiten ähnliche Phosphatmengen enthalten wie der Urin. Versetzt man z. B. 2 ccm Blutserum mit 0,1 ccm einer 0,2%igen Lithiumcarbonatlösung, ferner vom gleichen Serum nochmals 2 ccm mit 0,1 ccm einer 0,2%igen Harnsäure-Lithiumcarbonatlösung (entsprechend einer 10 mg% Erhöhung), fügt zu jeder Portion je 10 ccm vom Harnsäurereagens, schüttelt und filtriert vom gelatinösen Niederschlag. Man wäscht denselben zehnmal je 2,5 ccm Portionen Wassers nach, bis die Filtrate farblos erscheinen. Der Niederschlag wird nach Auswaschen gelblich und nur bei bilirubinhaltigen Seren nimmt er vom Biliverdin eine grasgrüne Färbung an. Dann wird wie oben die Hälfte der vereinigten und vermischten Filtrate (entsprechend 1 ccm Serum) mit Permanganat oxydiert und die andere Hälfte direkt weiter behandelt. In den meisten Fällen erhält man nach der Permanganatoxydation so schwach blau gefärbte Lösungen, daß eine kolorimetrische Untersuchung mit solchen nicht möglich ist. Multipliziert man in solchen Fällen den auf 10 mm Schichtdicke der Vergleichslösung umgerechneten Ablesungswert mit 14,5, so erhält man den Harnsäuregehalt von 100 ccm der Körperflüssigkeit. Es wurden z. B. in einem normalen Serum folgende Werte abgelesen:

Natives Blut:
Oxydiert: 0,1 mm (0,5 mm bei 50 mm abgelesen),
nicht oxydiert: 1,0 mm (bei 10 mm abgelesen);

Blut + Harnsäure:
Oxydiert: 0,2 mm (1,0 mm bei 50 mm abgelesen),
nicht oxydiert: 1,8 mm (bei 10 mm abgelesen),

woraus für das native Blut 13,5 mg% und für das mit Harnsäure versetzte Blut 23,2 mg% resultiert. Es wurden demnach von den zugesetzten 10 mg% Harnsäure 9,7 mg% wiedergefunden.

Mit dieser Methode haben wir bisher sowohl im menschlichen wie auch im Vollblut und Serum einiger Tierarten zahlreiche Untersuchungen ausgeführt. Schon die bisherigen Resultate bestätigen die früheren Befunde des Verf., daß die häufigsten Normalwerte zwischen 8 und 12 mg% liegen. Der höchste Wert bei den bisher untersuchten zirka 800 Blutseren war 58 mg%. Aber auch etwa

50 verschiedene Körperflüssigkeiten, wie Pleura- und Ascitespunktate, Duodenalsäfte, Cystenflüssigkeiten und Liquor enthielten stets quantitativ bestimmbare Harnsäure. Einige Tiersera, darunter auch Hundesera, erwiesen sich stets als harnsäurehaltig.

Angeregt durch die interessanten Arbeiten von Fr. Chrometzka[4] aus der Schittenhelm-Schule, versuchte Verf. mit einigen experimentellen Beiträgen Schittenhelm's Auffassung über die Urikolyse zu stützen. In der einen Untersuchungsserie wurden Harnsäure-Lithiumcarbonatlösungen in verschiedenen Konzentrationen unter Zugabe von einigen Tropfen Chloroform (zu 10 ccm 3 Tropfen) im Brutschrank aufbewahrt und in einzelnen Zeitabschnitten Harnsäurebestimmungen vorgenommen. Es konnte ohne Ausnahme eine Abnahme der Harnsäuremenge festgestellt werden. Außerdem wurden andern Harnsäureproben einige Tropfen H_2O_2 zugefügt, wobei die Zerstörung der Harnsäure noch größere Dimensionen annahm. Ferner wurde von vorsichtig defibriniertem Blut (stark hämolysierte Proben sind zu verwerfen) eine Vollblutprobe und eine zentrifugierte Probe (Serum) unter Zugabe von einigen Tropfen Chloroform (zu 10 ccm Blut 3 Tropfen) sofort eine Harnsäurebestimmung ausgeführt, andere nach 6 und nach 24 Stunden. Die Harnsäurewerte zeigten auch hier eine deutliche Abnahme, und zwar war der Ausschlag in Vollblut stärker als im Serum. Bei diesen Untersuchungen konnte auch die Frage der Bestimmung von Harnsäure in den roten Blutkörperchen berücksichtigt werden.

Es ergab sich, daß eine solche Bestimmung ohne Schwierigkeiten möglich ist, wenn man mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene (bis die Eiweißreaktion mit Sulfosalycilsäure negativ ausfällt) rote Blutkörperchen bis zum Ausgangsvolumen mit physiologischer Kochsalzlösung auffüllt und, wie oben beschrieben, verarbeitet. Aus den bisherigen Untersuchungen möge nur die interessante Tatsache hervorgehoben werden, daß menschliche rote Blutkörperchen sich als harnsäurereicher erwiesen als tierische.

[4] Der Purinstoffwechsel des Menschen. Erg. innerer Med. **44**, 538 (1932). Sonderabdruck Ztschr. f. d. ges. exper. Mediz., Bd. **86**, H. 3/4 (1933).

Notiz zum Nachweis kleiner Fluormengen.

Von

S. Kühnel Hagen.

Technische Hochschule, Kopenhagen.

(Eingelangt am 2. Juli 1934.)

B. Fetkenheuer[1] hat die Erscheinung beobachtet, daß kleine Mengen Fluorwasserstoff, die zu einer sichtbaren Ätzung von Glas nicht ausreichen, imstande sind, die Oberfläche, bezw. die Oberflächenspannung von Glas dermaßen zu verändern, daß konzentrierte Schwefelsäure daran nicht glatt abfließt, sondern beim Umschütteln sich zu Tröpfchen zusammenballt, wie etwa Wasser an einer mit Öl benetzten Fläche.

Gelegentlich eines Studienaufenthaltes bei Herrn Dozent Doktor F. Feigl in Wien habe ich mich u. a. auch mit dieser Reaktion auf Fluor beschäftigt und mich bemüht, eine sichere Anwendungsform für die Tüpfelanalyse zu finden.

Ausführung der Reaktion.

In einem engen Reagenzglas wird sehr wenig Kaliumdichromat in etwa 1 bis 1½ ccm heißer, konzentrierter Schwefelsäure vollständig gelöst. Mit der heißen Mischung wird die ganze Wand befeuchtet, um dieselbe vollständig zu entfetten, wonach die Säuremischung gleichmäßig abfließt. Hierauf setzt man einige Stäubchen einer festen Probe — bei Lösungen nur e i n e n Tropfen — hinzu und kocht auf. Es bildet sich nun eine deutliche „Kondensationsgrenze" der Schwefelsäure. Bei Anwesenheit von Fluorid zeigen sich o b e r h a l b dieser Grenze größere oder kleinere Flecken, von denen die dünne Säurehaut sich zurückzieht. Bei größeren

[1] C., **1922**, IV, 7.

Fluoridmengen tritt der Effekt augenblicklich ein (oft ohne Aufkochen) und dehnt sich sofort über die ganze Wand hinaus. Wenn sehr wenig Fluorid oder sehr schwer zersetzliche Fluoriden vorliegen, tritt die Reaktion erst nach kurzem Kochen ein.

Es ist von Wichtigkeit, daß alles Kaliumdichromat, ehe man die Probe zugibt, gelöst ist, kleine Kriställchen von $K_2Cr_2O_7$ oder CrO_3, die an der Wand haften, können nämlich zu einem der Fluoridreaktion ähnlichen Effekt Anlaß geben; deshalb darf man nur sehr wenig $K_2Cr_2O_7$ verwenden, weil sonst beim Aufkochen etwas CrO_3 aus der Säuremischung sublimieren kann und sich auf die Wände als Kriställchen niederschlagen. Übrigens befördert das Dichromat die Reaktion, wahrscheinlich weil die Sauerstoffentwicklung die Flußsäure aus der Mischung treibt.

Die Empfindlichkeit ist 0,5 γ Fluorid. Die Anwesenheit von anderen Halogenen, Schwefelverbindungen, Nitrat, Phosphat, Karbonat, Zirkon, Titan, Uran, Vanadin beeinträchtigt die Empfindlichkeit nicht.

Eisen- und Molybdänverbindungen setzen die Empfindlichkeit ein wenig herab, und zwar so, daß sie 1 γ im Tropfen ist, wenn die zu prüfende Lösung 1 molar an $FeSO_4$ oder 1 molar an MoO_4'' ist.

Sehr starke Komplexbildner wie SiO_3'' und BO_2' zeigen einen erheblichen Einfluß. Doch ist die Empfindlichkeit noch 5 γ, wenn die Lösung 0,5 molar an BO_2' ist oder wenn sie 0,3% SiO_2 enthält. Um Fluorid in sehr BO_2'- oder SiO_2-haltigen Proben nachzuweisen, muß man also erst BO_2' (z. B. als Methylborat) entfernen, bezw. das Fluorid in flüchtiges SiF_4 überführen und dann durch Destillation von überschüssigem SiO_2 trennen. Das in der Vorlage als SiF_6'' vorhandene Fluor kann mittels der oben beschriebenen Reaktion eindeutig erkannt werden; in einem Tropfen einer SiF_6''-Lösung, die 1 γ F enthält, gelingt der Nachweis ohne Schwierigkeit.

Eine Schnellmikrobestimmung des Eisens.

Von

I. M. Korenman,

Odessa.

(Eingelangt am 6. Juli 1934.)

Eisen(III)-Salze geben mit Sulfosalizylsäure eine Rotfärbung, deren Intensität vom Aciditätsgrad der Lösung abhängt. L. Lorber[1] hat festgestellt, daß Fe(II)- und Fe(III)-Salze in ammoniakalischem Medium mit Sulfosalicylsäure eine Gelb- oder Gelborangefärbung geben, die von der Konzentration des Ammoniaks nicht abhängt und darauf eine kolorimetrische Bestimmung des Eisens begründet, das nötigenfalls vorher in die dreiwertige Stufe zu überführen ist.

Im nachfolgenden wird eine vereinfachte und genaue Mikromethode angegeben, der das Lorber'sche Verfahren zugrunde liegt; dieselbe bietet auch die Möglichkeit, geringe Eisenmengen bei Gegenwart anderer Stoffe unmittelbar zu bestimmen.

Die Bestimmung wird folgendermaßen durchgeführt: In eine Reihe von Probiergläsern mit gleichem Durchmesser und einer Marke für 5 cm^3 wird je ein gemessenes Volumen der zu untersuchenden Lösungen (nicht mehr als je 3 cm^3) gebracht; in eines der Reagenzgläser kommen 1 bis 2 cm^3 Wasser hinzu. Dann werden in alle Probierröhrchen je 0,5 cm^3 10%iger wäßriger Sulfosalicylsäurelösung und je 1,5 cm^3 10%iges NH_4OH gegossen und alle Lösungen mit Wasser bis zur Marke, d. h. auf 5 cm^3 aufgefüllt. In den zu untersuchenden Lösungen tritt dabei eine mehr oder weniger intensive Gelbfärbung auf, was im Reagenzglas mit Wasser nicht der Fall ist. In die farblose Lösung wird nun aus der Mikrobürette Eisenstandardlösung (s. weiter unten) bis zur Übereinstim-

[1] Biochem. Ztschr., **181**, 391—394 (1927).

mung der Färbungen gegeben. Zunächst nimmt man den Ausgleich der Färbung mit der schwächsten Lösung vor und geht allmählich zu den intensiver gefärbten über. Dieses Analysenverfahren gestattet, schnell mehrere Lösungen zu untersuchen. Aus dem aufgebrauchten Volumen der Standardlösung läßt sich der Eisengehalt in der zu prüfenden Flüssigkeit leicht berechnen.

Beispiel. Gesetzt, daß zur Gleichgestaltung der Färbung 0,14 cm³ Standardlösung (1 cm³ = 0,1 mg Fe) zu der farblosen Lösung zugesetzt werden mußten, daß man weiter zur Übereinstimmung mit der folgenden zu untersuchenden Lösung noch 0,11 cm³ Standardlösung gab, d. h. daß im zweiten Fall 0,25 cm³ Standard aufgebraucht wurden. Die Berechnung wird wie folgt ausgeführt:

1. 5,14 cm³ enthalten 0,014 mg Fe
   5,00 cm³ enthalten x mg Fe
   $$x = \frac{0{,}014 \cdot 5}{5{,}14} = 0{,}0136 \text{ mg Fe}$$
2. 5,25 cm³ enthalten 0,025 mg Fe
   5,00 cm³ enthalten x mg Fe
   $$x = \frac{0{,}025 \cdot 5}{5{,}25} = 0{,}0238 \text{ mg Fe}$$

Es sind demnach in den zur Analyse verwendeten Volumina im ersten Falle 0,0136 mg, im zweiten 0,0238 mg Fe enthalten.

Herstellung der Standardlösung.

Zirka 1,75 g Eisen (III)-freies Mohr'sches Salz werden in 250 cm³ ausgekochtem und mit Schwefelsäure schwach angesäuertem Wasser gelöst. In der erhaltenen Lösung ist der Eisengehalt durch Mikrotitration mittels Kaliumpermanganat zu bestimmen. Von der Stammlösung wird ein 25 mg Eisen enthaltendes Volumen in einen Meßkolben (Inhalt 250 cm³) gebracht, 2,5 g Sulfosalicylsäure sowie ungefähr 75 cm³ 10%iger Ammoniak zugesetzt und mit Wasser bis zur Marke verdünnt; 1 cm³ der so bereiteten orangegelben Lösung enthält 0,10 mg Eisen.

Da sowohl Eisen(II)- als Eisen(III)-Salzlösungen mit gleichem Eisengehalt auf Zusatz von Sulfosalicylsäure gleich intensive Färbungen liefern (die Erfassungsgrenze der Reaktion[2] beträgt 1 γ Fe‴

[2] In abgestumpfter oder schwach saurer Lösung geben nur Fe‴-Salze mit Sulfosalicylsäure die Reaktion — Rotfärbung. Empfindlichkeit — 5 γ Fe‴ cm³.

oder $Fe^{\cdots}$ in 1 cm^3), so können zur Herstellung der Standardlösung sowohl Fe(II)- als auch Fe(III)-Salze verwendet werden.

In nachstehender Tabelle 1 sind die Ergebnisse einiger Bestimmungen von geringen Fe(II)- und Fe(III)-Mengen nach der angegebenen Methode festgelegt.

Tabelle 1.

Gegeben	Eisen gefunden mg	Differenz mg
0,030 mg $Fe^{\cdots}$	0,0301	0,0001
0,037 mg $Fe^{\cdots}$	0,0379	0,0009
0,050 mg $Fe^{\cdots}$	0,0503	0,0003
0,068 mg $Fe^{\cdots}$	0,0675	0,0005
0,080 mg $Fe^{\cdots}$	0,0805	0,0005
0,0030 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0031	0,0001
0,0073 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0076	0,0003
0,0150 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0154	0,0004
0,0250 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0256	0,0006
0,0340 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0341	0,0001
0,0400 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0404	0,0004
0,0540 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0536	0,0004
0,0780 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0786	0,0006
0,0900 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,0901	0,0001
0,1400 mg $Fe^{\cdot\cdot}$	0,1377	0,0023

Der absolute Bestimmungsfehler ist demnach sehr gering, der perzentuelle Fehler beträgt im Mittel etwa 1,5%.

Um den Einfluß von Begleitstoffen auf die Genauigkeit der Eisenbestimmung festzustellen, wurden zahlreiche kolorimetrische Titrationen ausgeführt, deren Ergebnisse aus der nachstehenden Tabelle 2 zu entnehmen sind.

Die in der Tabelle 2 enthaltenen Daten zeigen, daß die Anwesenheit von $NH_4^{\cdot}$-, $Ca^{\cdot\cdot}$-, $Zn^{\cdot\cdot}$-, $Al^{\cdots}$-, $Ag^{\cdot}$-Salzen im Überschuß, von geringen $Co^{\cdot\cdot}$-, Ni-Salzmengen oder von Chromat sowie von Chloriden, Nitraten, Sulfaten, Phosphaten, Oxalaten, Citraten und Rhodaniden die Genauigkeit der Bestimmung von sehr geringen Eisenmengen nicht beeinflußt. Bemerkenswert ist, daß die Eisenbestimmung nach der hier angegebenen Methode auch in Gegenwart von Phosphaten, Oxalaten und Citraten (die bekanntlich einige andere kolorimetrische Verfahren beeinträchtigen) ausführbar ist. Nicht

Tabelle 2.

Eisen gegeben mg	Zusatz	Eisen gefunden mg	Differenz mg
0,0380	100 mg NH_4Cl	0,0396	0,0016
0,0760	200 mg NH_4Cl	0,0741	0,0019
0,0340	50 mg NH_4CNS	0,0343	0,0003
0,0420	100 mg NH_4CNS	0,0413	0,0007
0,0530	150 mg NH_4CNS	0,0519	0,0011
0,0320	100 mg Na_2HPO_4	0,0327	0,0007
0,0410	150 mg Na_2HPO_4	0,0404	0,0006
0,0510	200 mg Na_2HPO_4	0,0500	0,0010
0,0200	100 mg $(NH_4)_2C_2O_4$	0,0210	0,0010
0,0280	50 mg $(NH_4)_2C_2O_4$	0,0292	0,0012
0,0360	75 mg $(NH_4)_2C_2O_4$	0,0361	0,0001
0,0190	50 mg Natriumcitrat	0,0192	0,0002
0,0240	100 mg Natriumcitrat	0,0238	0,0002
0,0570	150 mg Natriumcitrat	0,0536	0,0034
0,0290	200 mg $CaCl_2 . 6 H_2O$	0,0300	0,0010
0,0330	300 mg $CaCl_2 . 6 H_2O$	0,0344	0,0014
0,0450	400 mg $CaCl_2 . 6 H_2O$	0,0454	0,0004
0,0350	20 mg $ZnSO_4 . 7 H_2O$	0,0370	0,0020
0,0420	30 mg $ZnSO_4 . 7 H_2O$	0,0438	0,0018
0,0320	0,8 mg $Ni(NO_3)_2 . 6 H_2O$	0,0327	0,0007
0,0400	2,0 mg $Ni(NO_3)_2 . 6 H_2O$	0,0412	0,0012
0,0400	5,0 mg $Ni(NO_3)_2 . 6 H_2O$	0,0412	0,0012
0,0350	0,63 mg $Co(NO_3)_2 . 6 H_2O$	0,0370	0,0020
0,0330	0,05 mg $K_2Cr_2O_7$	0,0330	—
0,0470	0,30 mg $K_2Cr_2O_7$	0,0463	0,0007
0,0340	16,6 mg $KAl(SO_4)_2 . 12 H_2O$	0,0353	0,0013
0,0420	33,2 mg $KAl(SO_4)_2 . 12 H_2O$	0,0421	0,0001
0,0580	66,4 mg $KAl(SO_4)_2 . 12 H_2O$	0,0540	0,0040
0,0310	50 mg $AgNO_3$	0,0318	0,0008
0,0390	100 mg $AgNO_3$	0,0410	0,0020
0,0440	150 mg $AgNO_3$	0,0475	0,0035

anwendbar ist das Verfahren bei Gegenwart von Salzen der Wein-, Fluorwasserstoff- und Cyanwasserstoffsäure sowie Kupfer-, Mangan-, Chrom- und Bleisalzen.

Die vorstehend beschriebene Methode gestattet die Bestimmung sehr kleiner Eisenmengen in verschiedenen Präparaten. So wurde z. B. in chemisch reinem Zinksulfat 0,003% und 0,007% Eisen gefunden. Auch im Leitungswasser konnte Eisen bestimmt werden.

Zum mikrochemischen Nachweis des Koffeins und Theobromins[1].

Von

A. Kofler.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 9. Juli 1934.)

Das Koffein war die erste Substanz, bei der A. Nestler[2] die Mikrosublimation unmittelbar aus der Droge als einfaches und praktisch brauchbares Nachweisverfahren empfahl. Durch Nestler's Hinweis fand die schon früher beschriebene Mikrosublimation allgemeines Interesse und der Koffeinnachweis wurde geradezu das Schulbeispiel für die Einfachheit und Brauchbarkeit der Mikrosublimation. Die Methode wurde auch in die neueren Arzneibücher zum Nachweis von Purinbasen in den Drogen aufgenommen.

Die Identifizierung des Koffeins und die Unterscheidung vom Theobromin soll durch die Kristallform, die kristalloptischen Eigenschaften, durch die Löslichkeit und durch mikrochemische Reaktionen erfolgen.

Wollte man sich aber zum Erkennen von Koffein und Theobromin tatsächlich auf die Literaturangaben über die Form und die optischen Konstanten der Kristalle stützen, so müßte man damit zu völlig falschen Ergebnissen kommen. Die meisten Autoren bezeichnen die Form der Koffein- und Theobrominkristalle zwar als „charakteristisch", bringen aber in ihren Beschreibungen nur all-

[1] Das bei den vorliegenden Untersuchungen benützte Polarisationsmikroskop samt Universaldrehtisch wurde uns über Vermittlung der Österreichisch-Deutschen Wissenschaftshilfe von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle gedankt sei.

[2] Ber. Dtsch. botan. Ges., **19**, 350 (1901).

gemeine und keineswegs für die Diagnose hinreichend charakteristische Angaben. Auch die in der Literatur angeführten kristalloptischen Konstanten der beiden Alkaloide sind zum großen Teil falsch. Beispielsweise sind die in der Literatur übereinstimmend angegebenen Brechungsindizes unbrauchbar und irreführend, da unter den sechs in Betracht kommenden Werten (je ein kleinster und ein größter für Theobromin, für wasserfreies und wasserhaltiges Koffein) nur einer richtig ist.

Im folgenden wird über eigene Untersuchungen am Koffein und Theobromin berichtet. Neben dem wasserfreien Koffein berücksichtigten wir auch die wasserhaltigen Kristalle, die aus wäßrigen Lösungen auskristallisiert oder ausgefällt werden können und in der mikrochemischen Literatur ebenfalls beschrieben sind.

Koffein.

Kristalle des wasserfreien Koffeins entstehen bei der Mikrosublimation unter verschiedenen Versuchsbedingungen, die in der Literatur wiederholt beschrieben wurden. Um für die kristalloptischen Bestimmungen möglichst schön ausgebildete Kristalle zu erhalten, sublimierten wir zwischen 80° und 100°, vermindertem Druck (11 mm Hg) und einem Abstand von 5 mm. Vorwärmen des als Rezipienten dienenden Deckglases begünstigt die Ausbildung schöner Kristalle. Von Vorteil ist auch das Impfen des Deckglases, wobei man einige Kriställchen auf das Deckglas aufstreut, mit Filtrierpapier oder einem Tuch verreibt und dann wieder abwischt, so daß das Deckglas blank erscheint.

Das Koffein bildet in den Sublimaten sechsseitige, nadel- oder stengelförmige Kristalle, die fast immer an den Enden aufgefasert sind (Fig. 1 und Tafel Fig. 1 und 2). Meist liegen die Kristalle mit ihrer Längsrichtung parallel der Unterlage auf, doch sind häufig auch schräg gestellte oder aufrecht stehende Kristalle vorhanden. Die senkrecht stehenden Kristalle sind kurz prismatisch und haben einen regelmäßig sechseckigen Umriß. Die stengeligen Kristalle löschen gerade aus, die Schwingungsrichtung α entspricht der Längsrichtung. Die sechseckigen Prismen erscheinen unter dem Mikroskop im gewöhnlichen Licht infolge der Auffaserung am oberen Ende schwärzlich und zeigen zwischen gekreuzten Nikols meist Aggregatpolarisation. Vereinzelt findet man einheitlich aus-

löschende sechsseitige Blättchen, die zwischen gekreuzten Nikols dunkel bleiben. Im Konoskop erwiesen sich die Kristalle als optisch einachsig mit negativem optischen Charakter. Das wasserfreie Koffein kristallisiert also im hexagonalen Kristallsystem.

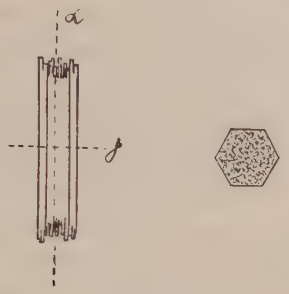


Fig. 1.

Die Doppelbrechung des Koffeins ist sehr stark, die Brechungsindizes lassen sich an den stengeligen Kristallen ohne weiteres bestimmen.

$$\alpha = 1{,}446$$
$$\gamma = \text{zirka } 1{,}70$$

Beim Erhitzen unter dem Mikroskop (L. KOFLER[3]) tritt infolge des Sublimationsvorganges eine vollständige Veränderung des mikroskopischen Bildes ein, worauf schon von L. KOFLER und W. DERNBACH[4] kurz hingewiesen wurde. Je nach der Geschwindigkeit des Erhitzens beginnen die Veränderungen bei verschiedenen Temperaturen. Bei raschem Anheizen des Mikroschmelzpunktapparates verschwinden ab 190° die kleinen Kristalle, die größeren aber wachsen und nehmen vor allem in der Breite zu, wobei sie nicht selten an Dicke abnehmen, so daß der stengelige Habitus verlorengeht und längliche Platten entstehen, deren schmäleres Ende meist rundliche Begrenzung aufweist. Die kurzen sechseckigen Säulchen wachsen langsamer, verlieren die Rauhigkeiten auf der Endfläche, wodurch sie einheitlich auslöschend werden, und behalten ihre scharfe Begrenzung stets bei. In dichteren Sublimaten berühren

[3] L. KOFLER, Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. pharmaz. Ges., **270**, 293 (1932).
[4] Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. pharmaz. Ges., **269**, 104 (1931).

sich schließlich die in die Breite wachsenden Kristalle, es werden endlich auch alle Lücken durch das orientierte Weiterwachsen der einzelnen Kristallplatten ausgefüllt, und bei zirka 200° hat man eine gleichmäßig dicke Schichte von Koffeinsubstanz vor sich, die aus polygonalen Einzelkristallen besteht, deren Begrenzungslinien an Wabenstruktur erinnert (Tafel Fig. 3). Erhitzt man jetzt weiter, so treten in der Schichte wieder Löcher durch Verdampfen auf, und man muß mit der Temperatur rasch steigen, um den Schmelzpunkt zu erhalten. Der Schmelzpunkt ist 238°. Aus der Schmelze kristallisiert das Koffein in ganz grobkörnigen Aggregaten oder in schönen sechsstrahligen Skelettkristallen aus. Dabei ist die Orientierung dieser Kristalle meist so, daß die optische Achse annähernd senkrecht zur Unterlage steht. Diese Kristalle geben sehr schöne Achsenbilder. Die Oberfläche der senkrecht zur optischen Achse orientierten Kristalle erscheint fein chagriniert, was sich nach einigen Tagen noch steigert. Als Ursache dürfte das Auftreten von Ätzgrübchen durch Verdampfen von Koffeinsubstanz angesehen werden.

Die Bestimmung der Brechungsexponenten an den aus Schmelzen erhaltenen Kristallen liefert dieselben Resultate wie bei den Sublimaten.

Aus Lösungen in Chloroform erhält man ebenfalls einerseits stengelige Kristalle, die oft Bündel feiner Nadeln darstellen, und anderseits sechsseitige kurze Säulchen, die häufig eine vom oberen Ende ausgehende sechsseitige Hohlpyramide aufweisen (Tafel Fig. 4). Sie stimmen ebenfalls in den optischen Konstanten mit den Sublimationskristallen überein.

Das kristallwasserhaltige Koffein wurde durch Verdunsten wäßriger Lösungen erhalten. Es kristallisiert in langen, seidenglänzenden, meist am Ende zugespitzten, seltener abgeschrägten Nadeln oder Bändern, die teils eine gerade, teils eine schiefe Auslöschung von 32° aufweisen (Fig. 2). Es sind monokline Kristalle, die teils auf 100, teils auf 010 aufliegen; Zwillinge nach 100 sind nicht selten. Die Achsenebene liegt in der Symmetrieebene, der Achsenwinkel ist klein und der optische Charakter negativ. Die Doppelbrechung ist sehr stark, nur der kleinste Brechungsindex war gut bestimmbar, während die Bestimmung der beiden höheren Exponenten wegen Löslichkeit in den Indexflüssig-

keiten nicht genau möglich war. Der kleinste und der größte Index lassen sich an den schief auslöschenden Nadeln in der entsprechenden Lage bestimmen, β an den gerade auslöschenden Nadeln in der Querrichtung.

$$\alpha = 1{,}421$$
$$\beta = \text{zirka } 1{,}661$$
$$\gamma = \text{zirka } 1{,}689$$

Eine Messung des Achsenwinkels war mangels geeigneter Kristalle nicht durchführbar, durch Berechnung aus obigen Brechungsexponenten ergibt sich für $2\,V = 30$ bis 35^0.

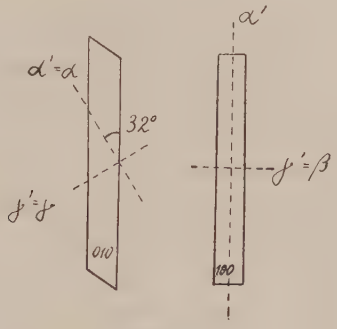


Fig. 2.

Erhitzt man wasserhaltiges Koffein, so entweicht das Wasser ab 70°, die Kristalle werden trüb. Bei weiterem Erhitzen bleiben die Kristalle bis zirka 180° unverändert, dann erfolgt die Umlagerung der Substanz in der Art, daß eine Septierung der trüben Stengel eintritt und schließlich der ganze Stengel in eine grobkörnige Kette wasserfreier Koffeinkristalle verwandelt wird. Bei weiterem Erhitzen erhält man dieselbe aus polygonal begrenzten Kristallen bestehende Schichte, wie oben bei dem wasserfreien Koffein beschrieben wurde.

Die Stellungnahme zu den zum Teil widersprechenden und unrichtigen Literaturangaben über das Koffein ist dadurch erschwert, daß die Autoren nicht immer genau angeben, ob sich ihre Werte auf wasserhaltiges oder wasserfreies Koffein beziehen. Allgemein wird das wasserfreie Koffein als rhombisch bezeichnet. Auch M. Wagenaar[5]

[5] Pharmaceut. Weekblad 1928, Nr. 52.

hält an dem rhombischen Kristallsystem fest, obwohl er die sechseckigen, nicht doppelbrechenden Blättchen beobachtet hat.

Die wasserhaltigen Kristalle werden in der Literatur als lange, monokline Nadeln beschrieben, die teils gerade, teils eine schiefe Auslöschung von 31° besitzen, was mit unseren Untersuchungen übereinstimmt. Nur die Angabe der Brechungsindizes ist unrichtig. Behrens und Kley[6] geben für Koffein 1,54 und 1,66 an, von denen aber der höhere mit unserem mittleren identisch ist, während der niedrigste und der höchste nicht gefunden wurden.

Theobromin.

Die Theobrominkristalle für die kristalloptischen Untersuchungen wurden durch mehrstündige Mikrosublimation bei 170° hergestellt. Dabei wurde ein längeres Blechstückchen benützt, das an einem schmalen Ende einen zirka 3 mm hohen umgebogenen Rand besitzt. Zum Auffangen des Sublimats diente ein Objektträger, der an einem Ende durch den umgebogenen Rand des Blechstückchens gestützt wurde, so daß er schräg über dem Sublimationsgut lag.

Das Theobromin kristallisiert in den Mikrosublimaten zum Teil in rautenförmigen Körnern oder kurzen Prismen, zum Teil in Form von Stäbchen, viereckigen Platten oder keulenförmigen Gebilden mit Querriefung und gezähneltem Rand (Fig. 3 und Tafel Fig. 5 und 6).

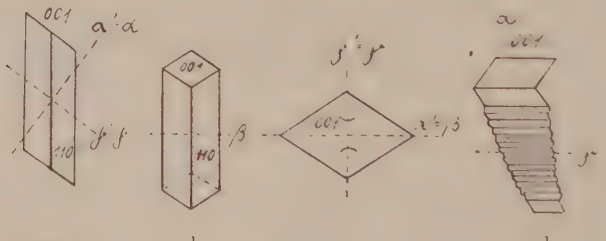


Fig. 3.

Der Einzelkristall ist ein monoklines Säulchen, dessen Begrenzung von den vier Flächen des aufrechten Prismas und dem Endflächenpaar geliefert wird. Die Kristalle liegen entweder auf einer der Prismenflächen auf und haben dann einen rhomboidischen

[6] H. Behrens u. P. D. C. Kley, Organische mikrochemische Analyse, Leipzig 1922.

Umriß und eine schiefe Auslöschung oder sie liegen auf der Endfläche, haben dann rautenförmigen Umriß und symmetrische Auslöschung (Fig. 3 c). Auch Kristalle auf 100 liegend sind vorhanden (Fig. 3 b). Sehr selten finden sich rhomboidische Kristalle mit einer medialen Kristallkante, die der Lage auf 010 entsprechen mit einer schiefen Auslöschung von 52° (Fig. 3 a). Da der Winkel der 001-Fläche zur 100-Fläche ebenfalls 52° beträgt, so liegt eine Schwingungsrichtung, und zwar ist es γ, der kürzeren Kante des Rhomboids parallel.

Neben den Einzelkristallen und kleineren Kristalldrusen finden sich immer, in manchen Präparaten sehr zahlreich, Kristallaggregate, die sich bei näherer Untersuchung als Wiederholungszwillinge nach 001 erweisen und daher in der Richtung senkrecht zu 001 gestreckt erscheinen. Die Form dieser Zwillingsbildungen ist von der Größe der Einzelindividuen abhängig. Bei großen Einzelkristallen stellen die Zwillingskomplexe mehrmals geknickte Stäbchen dar, bei kleinen Einzelkristallen entstehen Stengel oder viereckige Platten mit paralleler Streifung und gezähneltem Rand. Da die Auslöschung im Einzelkristall parallel der Trace von 001 verläuft, haben die Zwillingsbildungen einheitliche Auslöschung. Die Einzelkristalle sind rautenförmige Blättchen, daher erscheint in den Wiederholungszwillingen der rautenförmige Querschnitt wieder und man erkennt sowohl in der Ansicht von 010 als auch von 100 aus eine mediale, leicht gewellte Kristallkante. Die letzten beiden Lagen lassen sich ohne Drehung des Kristalls im allgemeinen nicht voneinander unterscheiden. Da aber in beiden Lagen der kleinste Brechungsexponent parallel der Längsrichtung bleibt und β und γ über 1.74 liegen, ist dies für die weitere Verwendbarkeit der Brechungsexponenten ohne Belang. Die unter bestimmten Bedingungen erhaltenen nadelförmigen Theobrominkristalle sind Zwillingskristalle, die auf 100 liegen. Sie stellen eigentlich sehr spitze Rauten dar, deren spitze Winkel eine Kristallkante verbindet.

Die Doppelbrechung des Theobromins ist ungemein stark; nur der kleinste Brechungsindex α war meßbar, die beiden anderen Brechungsexponenten liegen außerhalb der Bestimmbarkeit des uns zur Verfügung stehenden Abbée'schen Refraktometers. Der kleinste Brechungsexponent läßt sich ohne Schwierigkeit an den nadelförmigen oder an den quergerieften Kristallen in der Längsrichtung be-

stimmen, γ ist an den auf 010 liegenden Kristallen (Fig. 3 a) parallel der kurzen Kante zu erkennen.

$$\alpha = 1{,}435$$
$$\beta = \text{wenig über } 1{,}74$$
$$\gamma = \text{stark über } 1{,}74$$

Die rautenförmigen Kristalle zeigen im Konoskop den Austritt der spitzen Bisektrix, der optische Charakter ist negativ, die Achsenebene liegt in der Symmetrieebene und der Achsenwinkel $2V = 30'$ für weißes Licht. Die Dispersion $\varrho < v$ ist ziemlich stark.

Bei der Mikroschmelzpunktbestimmung schmilzt das Theobromin bei 351°. In der Literatur werden zwei verschiedene Mikroschmelzpunkte des Theobromins angegeben, und zwar 329 bis 330° und 351°, meistens wird dazu bemerkt, daß die Bestimmung im zugeschmolzenen Röhrchen durchgeführt wurde und oft ist von einem Schmelzen unter Zersetzung die Rede. Bei der Mikroschmelzpunktbestimmung sahen wir bei reinem Theobromin niemals einen Schmelzpunkt von 329 bis 330°. Verwendet man bei der Mikroschmelzpunktbestimmung sehr wenig Theobromin, so verflüchtigt sich die zwischen Objektträger und Deckglas liegende Substanz schon vor Erreichen des Schmelzpunktes, dabei ist aber mit Sicherheit zu erkennen, daß es sich nicht um ein Schmelzen, sondern um ein Verdampfen handelt. Bei genügender Substanzmenge oder größeren Kristallen ist auch ohne Einkitten des Präparats ein scharfer Schmelzpunkt von 351° feststellbar.

Die Literaturangaben über das Theobromin stimmen mit unseren Befunden nicht überein. Das Theobromin galt als rhombisch, was offenbar auf das Auftreten der oben angeführten, symmetrisch oder gerade auslöschenden Wiederholungszwillinge zurückzuführen ist. Der optische Charakter wird von Behrens und Kley[6] als negativ, von M. Wagenaar[7] aber als positiv bezeichnet. Behrens und Kley geben als niedrigsten Brechungsindex 1,51 an und fügen hinzu, daß er schwer zu bestimmen sei. An unzerkleinertem Material ist jedoch α im Wert von 1,435, wie oben bereits angeführt, an den entsprechenden Kristallen ohne weiteres gut bestimmbar.

Die vorstehenden Angaben beziehen sich sämtliche auf kri-

[7] Pharmaceut. Weekblad 1929, Nr. 1.

stallwasserfreies Theobromin. Dies sei deshalb hervorgehoben, weil in der mikrochemischen Literatur bisweilen auch von kristallwasserhaltigem Theobromin die Rede ist. A. Heiduschka und N. J. Meisner[8] betrachten das zu Anfang der Sublimation übergehende Theobromin als kristallwasserhaltig, das später übergehende als wasserfrei. Die Autoren bezeichnen die vielgestaltigen, stark verzweigten Aggregate als wasserhaltiges, die rautenförmigen Kristalle als wasserfreies Theobromin. Aus oben Mitgeteiltem ergibt sich, daß in Wirklichkeit beide Kristalle nur verschiedene Ausbildungsformen ein und derselben Kristallart darstellen. Wir selbst konnten keinerlei Anhaltspunkte für das Auftreten von wasserhaltigen Theobrominkristallen in den Mikrosublimaten gewinnen.

Aus unseren Untersuchungen ergibt sich, daß sich Kristalle des Koffeins und Theobromins an ihren kristalloptischen Eigenschaften erkennen und unterscheiden lassen. Der stengelige Habitus der Koffeinkristalle ist für die Diagnose in keiner Weise verwertbar. Der Habitus der Theobrominkristalle in Form der parallel gestreiften „knochenförmigen" (wie R. Eder[9] sie beschreibt) Zwillingsbildungen ist immerhin recht eigenartig und wird dem, der sich mit derartigen Sublimaten beschäftigt hat, erinnerlich bleiben. Diese Formen sind jedoch kein absolut sicheres Merkmal, da der Habitus sowie die Tracht der Kristalle so häufig durch Beimengungen und Lösungsgenossen weitgehend beeinflußt werden kann. So erhält man zum Beispiel bei Sublimaten des Theobromins unmittelbar aus Kakao häufig nur nadelförmige Sublimate, deren sichere Identifizierung und Unterscheidung vom Koffein durch den Habitus unmöglich ist. Bei näherer Untersuchung erwiesen sich die Nadeln als kristallographisch entsprechend den „knochenförmigen" Wiederholungszwillingen.

Die Feststellung der in Betracht kommenden kristalloptischen Konstanten setzt jedoch eine ausreichende Vertrautheit mit der Anwendung des Polarisationsmikroskops und eingehende Kenntnisse der Kristalloptik voraus. Wenn diese Voraussetzungen nicht zutreffen, kann der Mikrochemiker mit Zuhilfenahme des Mikro-

[8] Arch. Pharmaz., **261**, 106 (1922).

[9] Über die Mikrosublimation von Alkaloiden im luftverdünnten Raum, Dissert. Zürich 1912.

schmelzpunktapparats in Verbindung mit einfach durchzuführenden Untersuchungen im Polarisationsmikroskop Koffein- und Theobrominkristalle identifizieren.

Zunächst empfiehlt es sich, eine Untersuchung am Heiztisch vorzunehmen. Bei größeren Kristallen erfährt man dabei nicht nur den Schmelzpunkt, sondern beobachtet beim Koffein die oben beschriebenen Umwandlungsvorgänge. Diese Erscheinungen sind für Koffein tatsächlich sehr charakteristisch, da sie bisher bei keiner der vielen im Pharmakognostischen Institut auf dem Heiztisch untersuchten Substanzen beobachtet wurden. Das Theobromin zeigt auch in dieser Richtung mit dem Koffein keinerlei Ähnlichkeit.

Für das Theobromin selbst bietet die hohe Schmelz- oder Verflüchtigungstemperatur einen wertvollen diagnostischen Hinweis. Enthält das Sublimat kleinere Kristalle von Koffein, so gelingt es häufig, auch bei raschem Erhitzen nicht den Schmelzpunkt zu erreichen, da die Flüchtigkeit des Koffeins ab 200° eine außerordentlich hohe ist. Die charakteristischen, wenn auch bei spärlichen und kleineren Kristallen nicht so schön zu sehenden, Umwandlungsvorgänge ermöglichen aber auch in diesen Fällen eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose. Beim Theobromin gelingt es nur bei großen Kristallen, den Schmelzpunkt zu erreichen, da es sich vorher verflüchtigt. Diese Verflüchtigung tritt jedoch bei der gleichen Art des Erhitzens sehr viel höher ein als beim Koffein und bei vielen anderen Substanzen.

Ist durch das Verhalten am Heiztisch und zum Teil auch durch den Habitus das Vorhandensein von Koffein oder Theobromin wahrscheinlich, so kann die Diagnose durch Heranziehung der Brechungsindizes sichergestellt werden. In den stengeligen Kristallen des Koffeins ist der kleinste Brechungsexponent im Werte von 1,446 parallel der Längsrichtung meßbar, der größte im Werte von 1,70 parallel der Querrichtung. Bei Theobromin sind, wie oben erwähnt, die nadelförmigen und die „knochenförmigen" Kristallbildungen kristalloptisch als gleichartig zu betrachten und haben in der Längsrichtung den kleinsten Brechungsindex von 1,435 und in der Querrichtung den größten über 1,74.

Die Brechungsexponenten leisten auch sehr gute Dienste, wenn es sich nur darum handelt, Koffein und Theobromin in nadelförmigen Kristallen zu unterscheiden. Es genügt in diesem Fall die Ein-

bettung in Methylenjodid, wobei in Parallelstellung der Schwingungsrichtung γ (Querrichtung) mit der Schwingungsrichtung des Analysators sich Koffeinkristalle schwächer lichtbrechend als die umgebende Flüssigkeit erweisen. Theobromin ist in gleicher Flüssigkeit und Lage stärker lichtbrechend als die Umgebung.

Für die Differentialdiagnose zwischen Koffein und Theobromin lassen sich, wie in der Literatur allgemein angegeben wird, die Löslichkeitsunterschiede der beiden Alkaloide in Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff mit Vorteil heranziehen.

Über die Identifizierung der kristallinischen Fällungen des Koffeins und Theobromins durch die allgemeinen Alkaloidreagenzien wird im Zusammenhang mit dem Nachweis anderer Alkaloide an anderer Stelle berichtet werden.

Bei der Herstellung der zahlreichen Mikrosublimate war Herr Mag. pharm. A. Kutiak in dankenswerter Weise behilflich.

Zusammenfassung.

Die Literaturangaben über die kristalloptischen Eigenschaften des Koffeins und Theobromins, deren Bestimmungen vielfach zum Nachweis der beiden Alkaloide empfohlen werden, erwiesen sich zum größten Teil als falsch.

Das wasserfreie Koffein bildet in den Mikrosublimaten stengelige Kristalle des hexagonalen Systems; die Kristalle sind einachsig, haben negativen optischen Charakter und eine sehr starke Doppelbrechung. $\alpha = 1{,}446$ und $\gamma =$ zirka 1,70.

Beim Erhitzen auf dem Mikroschmelzpunktapparat zeigen die Koffeinkristalle charakteristische Umlagerungsvorgänge, wobei durch Apposition von Koffeinsubstanzen in der Fläche schließlich eine zusammenhängende Schichte entsteht, die sich aus polygonal begrenzten Einzelkristallen zusammensetzt. Bei 238° erfolgt das Schmelzen.

Das kristallwasserhaltige Koffein kristallisiert aus wäßrigen Lösungen in langen seidenglänzenden Nadeln des monoklinen Kristallsystems. Optischer Charakter negativ, Achsenwinkel klein, sehr starke Doppelbrechung: $\alpha = 1{,}421$, $\beta =$ zirka 1,661, $\gamma =$ zirka 1,689. Beim Erhitzen entweicht das Wasser bei ungefähr 70°, bei weiterem Erhitzen erfolgt dieselbe Umlagerung wie beim wasserfreien Koffein.

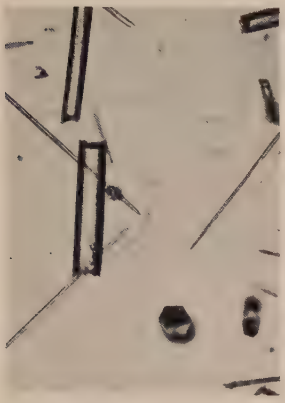
Kristalle des Koffeins lassen sich durch das Verhalten am Heiztisch während des Erhitzens bis zum Erreichen des Schmelzpunktes mit großer Wahrscheinlichkeit identifizieren. Volle Sicherheit gibt die Kontrolle der Brechungsexponenten.

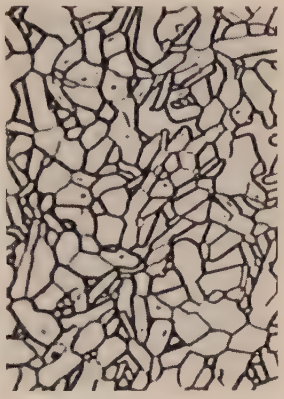
Das Theobromin kristallisiert in rautenförmigen Körnern oder kurzen Prismen des monoklinen Kristallsystems. Eigenartig sind vielgestaltige Zwillingsbildungen mit paralleler Streifung und gezähneltem Rand. Der optische Charakter ist negativ, der Achsenwinkel $2V = 30°$ für weißes Licht und die Dispersion $\varrho < v$ ziemlich stark. Auf dem Mikroschmelzpunktapparat schmilzt das Theobromin bei 351°.

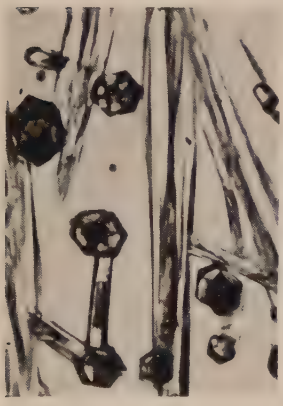
Die Prüfung der Brechungsexponenten in Verbindung mit dem eigenartigen Habitus sichert die Diagnose.

A. Kofler, Zum mikrochemischen Nachweis des Koffeins und Theobromins.

Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3.







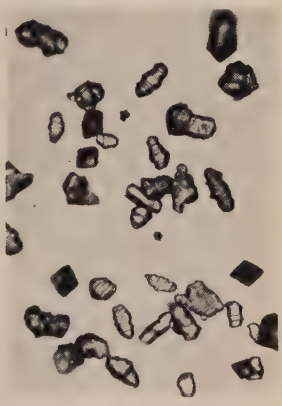


Fig. 4. Fig. 5. Fig. 6.

Erklärung zu den Mikrophotographien auf der Tafel.

Vergrößerung in Fig. 1, 4, 5 und 6 180fach; in Fig. 2 und 3 110fach.

Fig. 1. Mikrosublimat: Stengelige Koffeinkristalle mit aufgefaserten Enden; rechts unten zwei sechsseitige aufgestellte Stengel.

Fig. 2. Reichliches Mikrosublimat mit stengeligen und nadelförmigen Koffeinkristallen.

Fig. 3. Polygonal begrenzte Koffeinkristalle, entstanden durch Erhitzen der in Fig. 2 dargestellten Kristalle auf 200°.

Fig. 4. Koffeinkristalle aus Chloroform, zum Teil stengelig, zum Teil sechsseitig, mit negativer sechsseitiger Pyramide.

Fig. 5. Rautenförmige und prismatische Kristalle von Theobromin in einem Mikrosublimat; links oben und links unten Zwillingskristalle.

Fig. 6. Theobrominsublimat: Vorwiegend parallel geriefte Zwillingskristalle mit zackigen Rändern; nur wenige rautenförmige Kristalle.

Verlag **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig.**

Sammelreferat.

Elektrographische Methoden.

Von

R. Jirkovský.

Montanistische Hochschule Příbram, ČSR.

(Eingelangt am 3. Februar 1934.)

In den letzten Jahren haben A. Glazunov[1] und H. Fritz[2] ungefähr gleichzeitig, aber unabhängig voneinander, eine neue analytische Arbeitsmethode, die Elektrographie, ausgebildet; diese neue Methodik ermöglicht häufig eine qualitative und mitunter auch quantitative Analyse kleinster Substanzmengen und kann daher zu den mikrochemischen Arbeitsmethoden gerechnet werden. Vor den üblichen mikrochemischen Methoden besitzt das elektrographische Verfahren den Vorteil, daß sogar quantitative Analysen ohne äußerlich sichtbare Verletzung des Probegutes durchführbar sind. Die beiden genannten Forscher haben mit der Ausarbeitung der genannten Methodik verschiedene Ziele verfolgt, Glazunov suchte nach einer einfachen und raschen Methode zur Reproduktion der Makrostruktur verschiedener Metalle, H. Fritz beschäftigte sich vor allem mit der Bestimmung der Empfindlichkeit einiger chemischer Farbreaktionen; es ist daher auch nicht verwunderlich, daß die Arbeitsweisen der beiden genannten Autoren sich nicht unwesentlich voneinander unterscheiden.

---

[1] A. Glazunov, Au sujet de la question de la reproduction électrochimique de la macrostructure. Extrait des Comptes Rendus du Huitième Congrès de Chimie Industrielle, 1929.

[2] H. Fritz, Studien über die Empfindlichkeit einiger charakteristischer chemischer Farbreaktionen mit Hilfe der Elektro-Tüpfelmethode, Ztschr. analyt. Chem., **78**, 418—427 (1929).

Die prinzipiellen Grundlagen der Elektrographie sind außerordentlich einfach; man schaltet eine Metallplatte als Kathode und das zu untersuchende Metall als Anode; legt man zwischen Kathode und Anode ein mit bestimmten Reagenzien imprägniertes Papier und schließt den Strom, so kann das anodisch in Lösung gehende Metall auf dem Papier charakteristische, farbige Umsetzungsprodukte erzeugen.

A. GLAZUNOV[1] verwendete diese Methode zuerst zur Reproduktion der Makrostruktur von Eisen (Figur im Text) und von Kupfer bei Verwendung von $K_4[Fe(CN)_6]$ als Reagens; in gleicher Weise läßt sich Silber mittels $K_2Cr_2O_7$-Papier nachweisen. In seiner ersten Arbeit weist dieser Autor darauf hin, daß man aus der verschiedenen Verfärbung nicht nur auf die Zusammensetzung der Legierung, sondern auch auf mechanische Seigerungen schließen kann.

Zur selben Zeit veröffentlichte H. FRITZ[2] seine Elektrotüpfelmethode. Bei dieser Arbeitsmethode wird das zu untersuchende Metall ebenfalls als positive Elektrode geschaltet, also anodisch in Lösung und dadurch zur Reaktion gebracht, während als Kathode ein mit dem zu prüfenden Reagens getränktes Papierblatt, welches auf eine rotierende Walze aufgespannt wurde, dient. Als ganz genau regulierbare Stromquelle diente FRITZ eine Elektronenröhre. Die Schaltung der ganzen Anordnung ist in der Arbeit beschrieben und auch abgebildet. Die Apparatur ist viel umständlicher als die bei der GLAZUNOV'schen Methode. Der Arbeitsvorgang besteht lediglich darin, ein Blatt Papier mit dem zu prüfenden Reagens zu tränken, zwischen Filtrierpapier von überschüssiger Flüssigkeit zu befreien, sodann auf die Walze aufzuspannen und nach Einstellung der gewünschten Stromstärke den Bremshebel zu lösen, worauf die Reaktion eintritt. Es kann so auf einem Blatt Papier die Identität der Farbreaktion z. B. steigend von 0,1 Milliampère in beliebigen Stromstärkeintervallen aufgezeichnet und für gelegentliche vergleichende Studien aufbewahrt werden. Bei bekannter Umdrehungszahl und gegebenem Walzenumfang kann die für je 1 mm Strichlänge in Reaktion getretene Metallmenge aus der gemessenen Stromstärke in bekannter Weise leicht berechnet werden. H. FRITZ hat Versuchsergebnisse über die Empfindlichkeitsbestimmung einiger chemischer Farbreaktionen des Eisens, Kupfers, Nickels, Silbers angeführt, die er nach der Elektrotüpfelmethode erhalten hat.

Nach FRITZ besitzt diese Methode große Vorteile und mannigfache Anwendungsmöglichkeiten. Es besteht einfachste Handhabung, größte Zeitersparnis infolge weitgehender Automatisierung, bezw. Entfall zeitraubender Arbeiten, wie Lösen, Wägen, Messen usw. Besonders geeignet ist die Methode zur Bestimmung der Empfindlichkeitsgrenzen chemischer Reaktionen, der optimalen Reaktionsbedingungen, zur Überprüfung neuer charakteristischer Farbreaktionen, zu Untersuchungen über die Löslichkeit und Beschaffenheit von Niederschlägen, zur kolorimetrischen Bestimmung schwacher elektrischer Ströme, zur Bestimmung der Periodenzahl niederfrequenter Wechselströme.

Ob ein Ausbau der Methode, etwa für die qualitative Schnellanalyse von Metallen und Legierungen sowie für die Elektro-Kolorimetrie, möglich ist, muß durch besondere Untersuchungen festgestellt werden.

In einer besonderen Mitteilung gibt A. GLAZUNOV[3] eine Anleitung zur Anwendung der elektrographischen Methode. Die nötige Spannung soll 1 bis 2 V, die zur Anfertigung eines Abdruckes erforderliche Zeit 15 bis 60 Sekunden und der Widerstand eines richtig angefeuchteten Papiers zu Beginn ungefähr 40 Ω betragen. Die Richtigkeit der Abdrücke ist auch von der Stromdichte abhängig, welche zirka 0,01 bis 0,02 A/cm² betragen soll. Das Anschmiegen des Papiers an die Probe erzielt man mittels einer Gummiwalze. Nach GLAZUNOV kann auch die Struktur der Metalle Zink (mittels Ferrocyankaliumpapier, welches mit Kristallviolett angefärbt wird) und Nickel (mittels Dimethylglyoximpapier) nach dieser Methode reproduziert werden. Auf diese Weise, so bemerkt GLAZUNOV, ist die Reproduktion der Makrostruktur einfacher, rascher und billiger als nach jeder anderen Methode; richtige Abdrücke erfordern aber eine gewisse Praxis.

In einer weiteren Arbeit, die A. GLAZUNOV[4] 1930 am Inter-

[3] A. GLAZUNOV, O elektrografickém způsobu reprodukce makrostruktury. (Über die elektrographische Methode der Makrostrukturreproduktion.) „Strojnický Obzor", č. 24, 1929.

[4] A. GLAZUNOV, Nouvelle méthode d'analyse rapide des alliages sans déstriction de l'échantillon. Extrait des Comptes Rendus du Neuvième Congrès de Chimie Industrielle 1930. Ref. E. AMMERMANN, Stahl u. Eisen, 1931, p. 207—208, Neues Verfahren zur Schnellanalyse von Legierungen ohne Zerstörung der Probe.

nationalen Kongreß für industrielle Chemie in Barcelona vorgetragen hat, beschäftigt er sich mit der qualitativen Analyse von Legierungen auf elektrographischem Wege. Bei Legierungen müssen zwei Grundfälle unterschieden werden: 1. die Metalle bilden untereinander nur ein mechanisches Gemenge oder 2. feste Lösungen. Im ersteren Falle benützte er im Zink eingeschmolzene Kupferdrähte. Auf einem $K_4Fe[CN]_6$-Papier scheidet sich bei niedriger Spannung nur Zink aus und erst bei höheren Spannungen auch Kupfer. Ähnlich ist es bei Wismut und Kupfer. Bei Messing, wo es sich um feste Lösungen handelt, kann eine Trennung von Zink und Kupfer durch die Spannungsänderung nicht erzielt werden. Hier ist es empfehlenswert, höhere Spannungen von 10 bis 12 V zu verwenden, damit alle Metalle der Legierung in den Elektrolyten übergehen können; sie werden sodann einzeln durch spezifische Reagenzien nachgewiesen. Der Autor verweist auf die Möglichkeit, diese Methode für die quantitative Analyse auf kolorimetrischem Wege zu verwenden.

R. Jirkovský[5] hat die elektrographische Methode für die qualitative Bestimmung kleiner Nickel- und Kobaltmengen in Stählen angewendet, wobei die Probe nicht verletzt wird. Als Reagens benützte er Dimethylglyoxim, wobei die durch Eisen hervorgerufene Verfärbung durch Tränkung in Weinsäure, Essigsäure oder in essigsaurem Ammonium zu beseitigen ist. Ein anderer Weg besteht darin, daß man die exponierten Papiere in $K_4Fe[CN]_6$-Lösung tränkt und dann das Ferrokaliumferrocyanid in Oxalsäure löst, eventuell kann man den Vorgang durch Zersetzung des Ferrokaliumferrocyanids mittels verdünnter Lauge beschleunigen. Auf diese Weise sind auch Spuren von Nickel in Legierungen, Stählen und auch in Mineralien eindeutig erkennbar.

Nickel kann auch durch Sulfocyankalium, welches mit essigsaurem Ammonium angesäuert wurde, bestimmt werden. Das Eisen wird aus dem Papier durch Äther ausgewaschen. Die Anwesenheit von Co verursacht, daß die grüne Farbe, welche Nickel anzeigt, in Blaugrün bis Blau übergeht.

[5] R. Jirkovský, Nová metoda ke kvalitativnímu stanovení malých množství niklu a kobaltu v ocelích, bez porušení vzorku. (Eine neue Methode zur qualitativen Bestimmung kleiner Nickel- und Kobaltmengen in Stählen, ohne Verletzung der Probe.) Chemické Listy, roč. XXV, č. 11, 1931.

Kobalt wurde durch Kaliumrhodanidpapier und Kaliumnitritpapier, angesäuert mit Essigsäure, bestimmt. Diese Nickel- und Kobaltbestimmung in Stählen hat den Vorteil, daß sie ohne Verletzung der Probe durchgeführt werden kann. Es entfällt somit die mitunter umständliche Vorbereitung der Probe durch Bohren sowie die Auflösung derselben. Dieser Methode dürfte bereits derzeit einige Bedeutung für die qualitative Schnellanalyse zukommen; nach weiterer Ausbildung der Elektrokolorimetrie dürfte sie auch eine rasch durchführbare quantitative Bestimmung der zuletzt genannten Metalle ermöglichen.

In einer weiteren Arbeit versucht A. Glazunov[6], diese Methode zum Nachweis der Metalle Fe, Ag, Ni, Co, Cu, Zn, Bi, Pb, Cd, Sb, Sn, Mn anzuwenden; einige Schwierigkeiten bereiten Chrom und Wolfram, welche leicht passiv werden. Es müssen spezifische Reagenzien gesucht werden, die nur mit einem einzigen Metall reagieren, oder es muß die Analyse unter solchen Bedingungen durchgeführt werden, bei denen nur ein Metall reagiert. Auch können nach Jirkovský die erhaltenen Niederschläge mit Reagenzien behandelt werden, die eine selektive Lösung bewirken. Der Autor empfiehlt die Verwendung der von F. Feigl in dem Buche „Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen" beschriebenen Methoden.

An allerdings schwer zugänglicher Stelle hat B. Ježek[7] ein Referat über die prinzipiellen Grundlagen der elektrographischen Methode und deren Anwendbarkeit veröffentlicht. Er verweist auch auf eine Arbeit von R. Jirkovský über die rasche Bestimmung von leitenden Mineralien mittels dieser Methode; die recht befriedigenden Ergebnisse dieser Arbeit wurden bisher nicht veröffentlicht.

In letzter Zeit ist die elektrographische Methode sowohl zur makroskopischen Reproduktion als auch für analytische Versuche von John H. Hruška[8] in U. S. A. verwendet worden; dieser For-

[6] A. Glazunov, O elektrografickém způsobu analysy slitin. (Über die elektrographische Methode von Legierungsanalysen.) Chemické Listy, roč. XXV, č. 17—18, 1931.

[7] B. Ježek, O rychlé analyse slitin bez porušení vzorků podle způsobu Glazunovova. (Über eine Schnellanalyse von Legierungen ohne Verletzung der Proben nach der Glazunov'schen Methode.) Hornický Věstník 1931.

[8] John H. Hruška, The practical application of Elektro-Chemistry to Modern Macrography. Heat treating and forming, Novembre 1931, p. 1934—1037.

scher verglich verschiedene makroskopische Methoden bei der Reproduktion eines falsch gegossenen Rohres (Schlackeneinschlüsse) und hält die elektrographische Methode für die beste.

Neuerdings hat sich A. Glazunov[9] mit der quantitativen Bestimmung von Elementen in Legierungen bei Verwendung spezifischer Reagenzien beschäftigt. Die Versuche, die er mit Nickel bei Anwendung von Dimethylglyoxim macht, liefern ihm eine kolorimetrische Skala, nach welcher die Nickelmenge mit einer Genauigkeit von ungefähr 1% ermittelt werden kann.

R. Jirkovský[10] dehnte die Anwendung der elektrographischen Methode auf die Bestimmung von Mineralien aus. Dieses Verfahren kann für Mineralien verwendet werden, die wenigstens teilweise leitend sind; es ist insbesondere zur Bestimmung von Elementen und Sulfiden geeignet und übertrifft dann durch seine Empfindlichkeit, die besonders einfache und rasche Durchführbarkeit alle bisherigen Methoden zur qualitativen Mineralanalyse. Der Umstand, daß man die Probe zum Zwecke der Analyse überhaupt nicht verletzen muß, ist insbesondere bei Mineralien häufig von einiger Wichtigkeit. Oft soll ein kostbares Mineral analysiert werden, welches entweder nur selten vorkommt oder in einer schönen Kristallform vorhanden ist, und es handelt sich darum, das Mineral für die Sammlung zu bewahren. Manchmal genügen nicht die physikalischen und optischen Bestimmungsmethoden, aber 1 bis 2 Elemente ermöglichen die Identifizierung des Minerals. Diese Methode bewahrt uns das Mineral, denn es entfällt das Zerschlagen, Reiben und Pulverisieren, es genügt, wenn nur eine kleine, glatte Fläche vorhanden ist.

Der Autor verwendet eine einfache Apparatur, die auf Fig. 1 wiedergegeben ist. Mit derselben wurden die Metalle Fe, Ni, Co, Cu, Pb, Cd, Ag, Bi, As, Sb, Zn und andere in Sulfiden, Arseniden, Antimoniden und komplizierten Sulfosalzen nachgewiesen. Sulfidischer Schwefel kann mit kadmiumacetat- und salzsäuregetränktem

[9] A. Glazunov, Quelques essais d'analyse quantitative des alliages sans destriction de l'échantillon. Extrait des Comptes Rendus du Onzième Congrès de Chimie Industrielle 1932.

[10] R. Jirkovský, O elektrografickém způsobu určování nerostů. (Über die elektrographische Methode der Mineralbestimmung.) Báňský Svět. Bd. XI, Heft 2—3, 1932. Ref. in Journal of Industrial a Engineering Chem. News Edition, **10**, 23 (1932).

Papier erkannt werden; außerdem kann diese zu Abdruckverfahren angewendet werden, so zur Schwefelbestimmung nach der hüttenmännischen Methode von HEYEN-BAUMANN, bei welcher in 5%iger H_2SO_4 getränktes Bromsilberpapier verwendet wird, und zur Me-

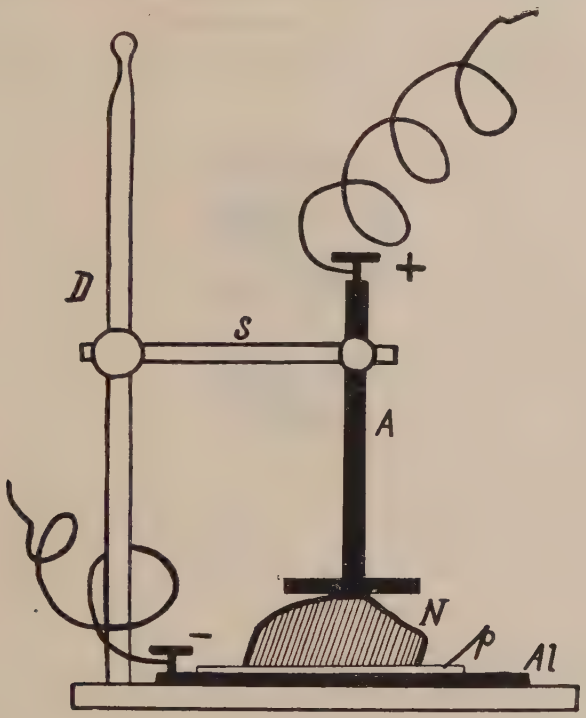


Fig. 1.
Die elektrographische Apparatur.

A = Anode. N = Mineral.
Al = Kathode. p = Reagenzpapier

thode VON ROYEN, der in $HgCl_2$-Lösung getränktes Bromsilberpapier benützt. In der Arbeit von JIRKOVSKÝ sind Abbildungen enthalten, welche die Makrostruktur von Přibramer Bleierzen auf elektrographischem Wege darstellen. Partien, welche PbS enthalten, färben Bichromatpapier gelb, Pyritpartien färben sich durch Ferrocyanid blau. Ähnlich wurde auch die Makrostruktur von Erzen,

welche Nickelin Ni(Fe)As enthalten, auf Dimethylglyoximpapier sichtbar gemacht (Fig. 2).

Die angefertigten Makrostrukturen entsprechen den mikrophotographischen Abbildungen.

Die ersten eingehenden Versuche, eine quantitative Bestimmung auf elektrographischem Wege durchzuführen, wurden von A. Glazunov und J. Křivohlavý[11] durchgeführt. Die Autoren beschäftigen sich mit der quantitativen Bestimmung des Nickels; der Umstand,

Fig. 2.

Elektrographisches Bild des nikelins Ni (Fe) As in der Erze auf Nickeldimethylglyoxim-papier. (Die schwarzen Flecke sind rot.)

Fig. 1 und Fig. 2 aus d. Arb. R. Jirkovský, Über die elektrographische Methode der Mineralbestimmung. Báňský Svět, 1932, siehe lit. 10.

daß Nickel in Stählen keine beständigen Karbide bildet, ließ erwarten, daß die quantitative Analyse ohne besondere Schwierigkeiten durchführbar ist. Zunächst wird eine kurze Beschreibung der Methode und der Apparatur gegeben, sodann werden eingehend alle Bedingungen untersucht, die das Ergebnis der elektrographischen Methode beeinflussen können. Hier wird unter anderem festgestellt, daß es gleichgültig ist, ob man große oder kleine Probeflächen verwendet, denn unter gleichen Bedingungen sind die Intensitäten aller Abdrücke einer bestimmten Probe gleich, ob nun eine große oder eine kleine Fläche der Probe verwendet wird. In Betracht gezogen wird auch die Homogenität und Heterogenität der Legierungen.

[11] A. Glazunov und J. Křivohlavý, Quantitative Bestimmung des Nickels in Nickelstählen auf elektrographischem Wege. Ztschr. physikal. Chem., Abt. A. **161**, 373 (1932). Ref. Metal progress, octobre 1933, p. 58a, 64.

Ferner leiten die Autoren Gleichungen ab, nach welchen der Nickelgehalt errechnet werden kann. In der zitierten Untersuchung werden Ergebnisse einiger Bestimmungen besprochen und auch Diagramme angegeben, nach welchen die Resultate auf graphischem Wege ermittelt werden können; diese Diagramme sind für konstante und veränderliche Stromstärken während der Analyse anwendbar. Die Stromstärke kann durch entsprechende Handhabung eines Widerstandes konstant gehalten werden, und in diesem Falle läßt sich das nötige Diagramm mit wenigen Strichen, ohne irgendwelche Berechnungen oder Annahmen, zeichnen. Bei der Bestimmung geht man auch hier von einer Probe mit bekanntem Nickelgehalte aus. Mit dieser Probe macht man 3 bis 4 Abdrücke bei verschiedener, bekannter Versuchsdauer. Mit der unbekannten Probe macht man einen Abdruck und vergleicht die Intensität des so erhaltenen Farbfleckes mit denen der Ausgangsprobe. Stimmt die Intensität der unbekannten Probe mit einer Intensität der bekannten Probe überein, so ist die Analyse beendet; ansonsten muß noch ein Abdruck bei etwas geänderter Dauer mit der unbekannten Probe angefertigt werden. Nun kennt man den Prozentgehalt der Ausgangsprobe, die Versuchsdauer bei der unbekannten und bei der übereinstimmenden Intensität der bekannten Probe, und mit Hilfe dieser Ergebnisse kann dann entweder mathematisch oder graphisch im vorerwähnten Diagramme das Resultat sofort ermittelt werden. Selbst wenn man keine stabile Skala einer bekannten Probe hat und diese jeweils anfertigt, ist die ganze quantitative Analyse in 1 bis 2 Minuten erledigt. Die auf diese Weise erzielte Genauigkeit war recht gut, indem selbst ohne Übung bis auf 0,1% genaue Werte erhalten werden.

In letzter Zeit wurden die Bedingungen der elektrographischen Methode von E. Jimeno, J. Bernal und J. Ibarz[12] im Laboratorium der Universität Barcelona eingehend bearbeitet. Die Autoren verwenden zum Unterschied von Glazunov geleimtes Papier (Visitkarton), welches nach ihrer Ansicht für diese Zwecke besser geeignet sein soll, da die Abdrücke auf ungeleimtem Papier verfließen. Die Verfasser studieren die elektrochemische Reproduktion der Makrostrukturen von gewöhnlichen Eisen- und Stahlsorten.

[12] E. Jimeno, J. Bernal und J. Ibarez, Método electroquimico de reproducción de macroestructuras en materiales metalúrgicos. Anales de la Sociedad Española de Fisica y Quimica XXX, p. 655, 1932.

Diese Methode liefert gute Resultate und bietet große Vorteile gegenüber den anderen Methoden, unter anderem, daß man einen direkten Abdruck erhält, ohne die Notwendigkeit, das betreffende Stück zu photographieren. So ergibt sich auch die Möglichkeit, Spezialstähle makrographisch zu prüfen, was für die metallurgische Industrie von großer Wichtigkeit ist und was durch Ätzen mit chemischen Reagenzien nicht gut erzielt werden kann. Beigefügt sind neun Makrophotographien, in denen klar die Verschiedenheiten zu erkennen sind, welche die Struktur jedes Materialstückes zeigt.

In der folgenden Arbeit behandeln A. Glazunov und J. Křivohlavý[13] allgemein und durch Versuche die Möglichkeit und die Bedingungen einer quantitativen Bestimmung der Metalle in Stählen mittels der elektrographischen Methode. Von Einfluß auf das Ergebnis sind der Druck, mit welchem die Probe angedrückt wird, das Durchtränken des Papiers, die Änderung der Konzentration des verwendeten Elektrolyten, wichtig ist die Stromdurchgangszeit und der Einfluß der Größe der Probenfläche auf die Stromintensität. Weiters muß die Legierung eine feste Lösung sein, das heißt, sie muß homogen sein, damit alle Elemente gleichzeitig in Lösung gehen. Bei legierten Stählen ist z. B. Chrom und Mangan teils an Karbide gebunden, teils im Ferrit, und dies als feste Lösung. Man kann also nur einen Teil des Metalls ermitteln und denjenigen, der an Karbide gebunden ist, muß man durch eine Korrektur zum ersten Teile zuzählen. Die mathematische Lösung der quantitativen Bestimmung ist in einer früheren Arbeit abgeleitet (11) und gilt auch allgemein, wenn wir jeweils für das gesuchte Element das elektrochemische Äquivalent einsetzen.

Die Gleichung in der allgemeinen Form lautet:

$$(\%\,\mathrm{Me})_x = \frac{I \,.\, t \,.\, \%\,\mathrm{Me} \,.\, Q_x}{(I \,.\, t)_x \,.\, Q}$$

In dieser Gleichung bedeutet: $(\%\,\mathrm{Me})_x$ den Prozentgehalt des gesuchten (unbekannten) Elementes, $(I \,.\, t)$ das Produkt Stromintensität mal Zeit des Versuches mit der bekannten Probe, $(I \,.\, t)_x$ das

[13] A. Glazunov a J. Křivohlavý, Kvantitativní stanovení kovů ve slitinách elektrografickým způsobem se zvláštním zřetelem na analysu ocelí. (The Electrographical Determination of Metals in Alloys With Special Respect to the Steel Analysis. Chemický Obzor, č. 12, 1932.

gleiche für die unbekannte Probe, % Me den Prozentgehalt des bekannten Elementes, Q die Fläche der bekannten und Q_x die Fläche der unbekannten Probe.

Aus der Intensität der Verfärbung kann man sodann mittels der angeführten Formel den Prozentgehalt des Metalls ermitteln. Die Autoren haben auch Diagramme für die Bestimmung des Prozentgehaltes aufgestellt.

In letzter Zeit hat Ed. Arnold[14] eine interessante Kombination der Tüpfelmethode nach F. Feigl und N. A. Tananajeff mit der elektrographischen Methode nach Glazunov veröffentlicht. Der Autor trennt zwar diese Methoden nicht voneinander, doch verfolgt die von ihm angeführte Methode das gleiche Prinzip wie die Tüpfelreaktionen, nur daß das Zuführen der Ionen durch Elektrolyse geschieht, was die Tüpfelmethode wesentlich vereinfacht. Er benützt Benzidinpapier und Papiere, die in Na_2S getränkt wurden. Die einzelnen Elemente Sb, Sn, Al, Cr, Cd, Co, Ni, Pb, Ag, Zn, Fe unterscheidet er sodann durch Bildung der entsprechenden Farbreaktionen mittels spezifischer Reagenzien.

A. Glazunov und J. Křivohlavý[15] wiesen darauf hin, daß der von Arnold beschrittene Weg keine reine elektrographische Methode, sondern eine zweckdienliche Kombination der Tüpfel- und der elektrographischen Methode darstellt. Die Autoren halten die Tüpfelmethode für die Bestimmung von Metallüberzügen infolge verschiedener Mängel nicht für vorteilhaft und ziehen für diese Zwecke die elektrographische Methode vor, was sie durch Analysen von vernickelten und verchromten Proben bekräftigen. Für die Bestimmung von Chrom eignet sich sehr gut Diphenylcarbazid als spezifisches Reagens, für vernickelte Substanzen Dimethylglyoxim.

Auf dem Internationalen Gießereikongreß in Prag 1933 wurde eine Arbeit von A. Glazunov und J. Křivohlavý[16] vorgetragen, die

[14] Ed. Arnold, Zkoušení pokovovaného zboží. (Essai d'objets recouverts de métaux.) Chemické Listy XXVII, p. 73—78, 1933.

[15] A. Glazunov a J. Křivohlavý, Rychlé rozlišování pochromovaného a poniklovaného zboží elektrograficky. (Rapid Electrographic Differentiation of Chrom-Plated and Nickel-Plated Goods.) Chemický Obzor, č. 9, 1933.

[16] A. Glazunov a J. Křivohlavý, Rychlé stanovení chromu v ocelích a litinách. (Schnellbestimmung des Chromgehaltes im Stahl und Gußeisen.) Slévárenský sjezd v Praze 1933.

sich mit der Schnellbestimmung des Chroms im Stahl und Gußeisen beschäftigt.

Als Reagens für die elektrographische Methode wird ein Gemisch von Benzidin und Essigsäure benützt. Da aber Chrom teilweise in Form von Karbiden gebunden ist, muß für die quantitative Bestimmung, den Autoren zufolge, entweder der nicht gebundene Chromgehalt festgestellt und das Schlußergebnis durch Zuzählung einer entsprechenden Korrektur ermittelt werden, oder aber die Probe muß derart gehärtet werden, daß eine homogene Legierung entsteht.

Diese karbidische Bindung des Chroms in Stählen wirkt bei der Bestimmung auf elektrographischem Wege derart störend, daß der Referent die Anwendbarkeit dieser Methode zur Chrombestimmung bezweifelt.

Die elektrographische Methode ist erst in den Anfängen und erfordert eine genaue Durcharbeitung seitens eines erfahrenen Chemikers. Man muß die empfindlichsten Reaktionen für dieses oder jenes Element aufsuchen und die Versuchsbedingungen derart wählen, daß die übrigen anwesenden Elemente in der Legierung oder im Mineral die Reaktion nicht stören.

Die moderne qualitative Analyse verwendet in zunehmendem Maße empfindliche organische Reagenzien, und es muß daher auch die Elektrographie diesen Weg antreten, dann wird sie zu einer Methode ausgestaltet werden, mit welcher man mikrochemische Mengen der meisten Elemente bestimmen kann. Ich möchte empfehlen, daß diese Methode zu den empfindlichen Reaktionen greift, die F. Feigl[17] (u. d. anderen)[18, 19, 20] bei einer Tüpfelanalyse anwendet.

---

[17] F. Feigl, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktion. Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1931.

[18] Tougarinoff, Ann. Soc. Sc. Brux., **3/4**, 145 (1930).

[19] G. Gutzeit, Sur une méthode d'analyse qualitative rapide. Diss. Univ. Genève. Helv. chim. Acta, **12**, 829 (1929).

[20] N. A. Tananaeff, Ztschr. anal. Chem., 1924, 1927, 1929 usw.

Bücherschau.

Bilder zur qualitativen Mikroanalyse anorganischer Stoffe. Zusammengestellt von Wilhelm Geilmann, a. o. Professor an der Technischen Hochschule Hannover. Mit 240 Abbildungen auf 40 Tafeln. Verlag von Leopold Voß, Leipzig 1934. Brosch. RM 8·—, geb. RM 9·—.

Das Büchlein enthält 240 Mikrophotographien von Reaktionsprodukten, die bei den gebräuchlichen Kristallfällungsreaktionen in der qualitativen Mikroanalyse anorganischer Verbindungen erhalten werden, außerdem die zu den Bildern gehörenden Erläuterungen, ein Vorwort, eine Einleitung und ein Sachregister. Die Abbildungen sind einwandfrei und werden allen Forderungen gerecht, die man an sie sowohl hinsichtlich der Auswahl des abgebildeten Materials als auch hinsichtlich der Ausführung stellen kann. Der Atlas leistet dem Mikroanalytiker zweifellos gute Dienste, falls dieser im Auge behält, daß dem Habitusbild der Kristallformen nur eine vorsichtig zu bewertende analytische Bedeutung zukommt. Der Verfasser selbst mahnt in der Einleitung zu der gebührenden Vorsicht. Er hebt hervor, daß die Benutzung der Bilder nicht dazu verleiten darf, auf die Ausführung einer Vergleichsreaktion zu verzichten, falls die betreffende Reaktion mit ihren Formen noch unbekannt ist. R. Wasicky (Wien).

Mathematische Methoden für Versuchsansteller auf den Gebieten der Naturwissenschaften, Landwirtschaft und Medizin. Von Dr. Walter Ulrich Behrens. Mit 14 graphischen Darstellungen. 137 Seiten. Verlag von Eugen Ulmer, Stuttgart 1933. Preis brosch. RM 8·—, geb. RM 9·—.

Nach einer kurzen Einführung in die gebräuchlichen Methoden des zahlenmäßigen Rechnens werden im Hauptteil die Grundlagen der Fehler- und Ausgleichsrechnung und die zweckmäßige Verwertung zahlenmäßiger Versuchsergebnisse beschrieben. Den Abschluß bildet ein Kapitel zur Untersuchung nicht quantitativer Merkmale. Die Darstellung erfolgt überall elementar und an Hand von vielen Beispielen. Es liegt in der Natur des Gegenstandes, daß die Lektüre des Büchleins doch ein von der Vorschulung des Lesers abhängiges, verhältnismäßig hohes Maß an Aufmerksamkeit des Lesers erfordert.

Die kurze Schrift wird vielen Experimentatoren, die sich mit Reihenversuchen beschäftigen, von Vorteil sein, ihr Studium kann insbesondere allen jenen wärmstens angeraten werden, die sich mit der Aufstellung und Verwertung von Statistiken über physiologische, biologische und ähnliche Versuche und Beobachtungen beschäftigen, denn viele Mißerfolge, welche die „Statistik", manchmal auch mikrochemische oder physikalische Hilfsmethoden, in Mißkredit bringen, sind auf die leider häufig ganz unzulängliche „mathematische" Behandlung des Materials zurückzuführen. Ph. Gross.

Englisch-Deutsches Fachwörterbuch der Metallurgie. Band II. Von HENRY FREEMANN. Leipzig, Otto Spamer G. m. b. H. (2. Teil, Englisch-Deutsch, 1934, 347 S.) Geb. RM 25·—.

In rascher Folge liegt in vollendeter Form der zweite Teil von FREEMANN's Fachwörterbuch der Metallurgie vor. Wie im ersten Teil (deutsch-englisch) hat der Verfasser beim Aufbau des Wörterbuches vornehmlich den praktischen Zweck weitestgehend berücksichtigt. Einleitend wird eine übersichtliche Zusammenstellung der Umwandlungsfaktoren und Kurzzeichen gegeben, die speziell beim Studium englischer Originalarbeiten sehr willkommen sein wird. An der Reichhaltigkeit der Vokabeln erkennt man deutlich, daß bei der Abfassung dieses zweiten Teiles ein ausgedehntes Studium großer Fachwörterbücher und einschlägigen Schrifttums vorausgegangen ist. Das Wörterbuch gliedert sich in gleiche Gruppen wie im ersten Teil, und zwar Rohstoffe, Hochofen und seine Erzeugnisse, die Erzeugung von Stahl, die Formgebungsarbeiten, Werkstoffkunde, Werksanlagen und Betriebseinrichtung, Betriebswirtschaft, Metallhüttenwesen und Wirtschaft.

Das vorliegende Wörterbuch kann allen Anforderungen an ein solches für Metallurgie gerecht werden und auch der zweite Teil ist ebenso zu empfehlen wie der erste. M. NIESSNER.

Hans Molisch, Erinnerungen und Welteindrücke eines Naturforschers. E. Haim & Co., Wien 1934. 232 S. mit einem Bildnis und 13 Abbildungen. Preis brosch. RM 9·—, geb. RM 10·80.

Der Wiener Altmeister der Pflanzenphysiologie, bekannt auch als Pionier der Pflanzenmikrochemie, erzählt in überaus fesselnder Form aus seinem Leben und Schaffen. Als Mikrochemiker bearbeitete er in zahllosen kritischen eigenen Versuchen grundlegend die Gewebschemie der Pflanzen. Hierbei hatte er immer das Ziel vor Augen, pflanzenanatomische und -physiologische Kenntnisse zu vertiefen. So gelang es ihm, die Wissensgebiete der Chemie und Botanik auf neue Weise zu verknüpfen. Zahlreiche Schüler folgten ihm auf diesem Wege, so daß er zum Begründer einer Wiener histochemischen Schule wurde. Seine bekannte „Mikrochemie der Pflanze" liegt bereits in dritter Auflage vor und dient den Pflanzenchemikern der ganzen Erde als wichtiges Rüstzeug. Die Wurzeln seines mikrochemischen Schaffens liegen wohl in seiner Zeit als junger Professor der Technischen Hochschule in Graz, wo ihn insbesondere mit EMICH Freundschaft verband.

MOLISCH' Lebenserinnerungen gewähren reizvolle Einblicke in die Lehr- und Forschertätigkeit eines großen Gelehrten, und die Welteindrücke, die er auf weiten Reisen in Europa, Indien, Java, China, Amerika und Japan aufgenommen hat. Wir erfreuen uns an dem harmonischen Leben MOLISCH', welches ein Aufsteigen aus einfachen Verhältnissen zu beglückender Tätigkeit ist. In voller Rüstigkeit waltet er gegenwärtig seines hohen Amtes als Vizepräsident der Akademie der Wissenschaften in Wien. Die Erinnerungen des Siebenundsiebzigjährigen, der im Laufe seines Lebens mit den bedeutendsten Menschen seiner Zeit in Berührung gekommen ist — als Knabe hat er noch mit GREGOR MENDEL gesprochen — stellen das wissenschaftliche Leben im alten und neuen Österreich

sowie an verschiedenen Forschungsstätten des Auslandes anschaulich und ungeschminkt vor Augen und geben damit ein Kulturbild, das auch außerhalb des Kreises der engen Fachgenossen des Verfassers bleibenden Wert behält.

O. Werner.

Ausstellungsführer. Herausgegeben von der Dechema, deutsche Gesellschaft für chemisches Apparatewesen E. V., anläßlich der Achema VII, Ausstellung für chem. Apparatewesen, Köln, 18. bis 27. Mai 1934.

Der vorliegende Führer bietet nicht nur einen Überblick über die außerordentliche Fülle der Objekte, die in der Achema VII ausgestellt war, sondern ist zugleich ein reichhaltiger Bezugsquellennachweis chemischer Apparate und Maschinen für Wissenschaft und Technik, der auch nach Beendigung der Ausstellung seinen praktischen Wert behält.

F. Feigl.

VARIA.

Prof. Dr. Armin Tschermak-Seysenegg, Ehrendoktor der Wiener Tierärztlichen Hochschule. Mit einstimmigem Beschluß des Professorenkollegiums ist dem seinerzeitigen Professor und ersten Rektor der Wiener Tierärztlichen Hochschule Prof. Dr. A. TSCHERMAK-SEYSENEGG, derzeit ordentlichem Professor der Physiologie an der Prager Deutschen Universität, die Würde eines Ehrendoktors der Wiener Tierärztlichen Hochschule verliehen worden.

Frau Pierre Curie, Paris, geb. Marya Sklodowska, Entdeckerin des Radiums und Poloniums, Nobelpreisträgerin 1903 und 1911, Leiterin des Radium-Instituts der Sorbonne, ist in Paris am 4. Juli im Alter von 67 Jahren gestorben.

Dr. Josef Kisser, Privatdozenten für Anatomie und Physiologie der Pflanzen an der Universität in Wien, wurde der Titel eines a. o. Professors verliehen.

Dr. Hermann Fischer, Privatdozent für Chemie an der Philosophischen Fakultät der Universität Basel, wurde zum a. o. Professor ernannt.

Dr. Ernst Eigenberger, Assistent an der Deutschen Technischen Hochschule in Prag, erhielt die venia docendi für das Fach der organischen Chemie.

Die Bundesanstalt für chemische und pharmazeutische Untersuchungen im österreichischen Bundesministerium für soziale Verwaltung (Volksgesundheitsamt) feierte ihr 25jähriges Bestehen. Sie hat aus diesem Anlaß eine Festschrift herausgegeben.

Dr. Josef Gicklhorn, Privatdozent an der naturwissenschaftlichen Fakultät der Deutschen Universität in Prag, wurde zum a. o. Professor ernannt.

Prof. Hans von Euler, Stockholm, wurde bei der Hundertjahrfeier der Universität Bern, Schweiz, zum Ehrendoktor dieser Hochschule ernannt.

O. ö. Prof. Dr. phil. W. J. Müller, Vorstand des Instituts für chemische Technologie anorganischer Stoffe an der Technischen Hochschule Wien, feierte am 8. Juli seinen 60. Geburtstag. Prof. W. J. MÜLLER, dem an diesem Tage mannigfache Ehrungen seitens zahlreicher Fachkollegen des In- und Auslandes zuteil wurden, hat sich außerordentliche Verdienste um die Neuerrichtung und den Ausbau seines Instituts erworben, das eine der modernsten und besteingerichtetsten Lehr- und Forschungsstätten des Kontinents ist. Zu den zahlreichen in diesem Institut gepflegten Wissensgebieten gehört auch die Anwendung mikrochemischer Methoden für die Ermittlung von Inhomogenitäten in metallischen Werkstoffen, worüber in der MIKROCHEMIE mehrere Abhandlungen erschienen sind.

American Chemical Society hält ihre Herbstversammlung in Cleveland, Ohio, vom 10. bis 14. September ab, ihre nächstjährige Frühjahrsversammlung in New York in der Woche vom 22. April.

Verleihung des Fritz-Pregl-Preises für 1934. „Die Akademie hat beschlossen, den Preis in der Höhe von eintausend Schilling an Dr. LUDWIG KOFLER, o. ö. Professor an der Universität Innsbruck, für seine Arbeiten »Über Vakuumsublimation unter dem Mikroskop« und »Über einen neuen Mikroschmelzpunktapparat« zu verleihen.

Die von KOFLER ausgebauten Methoden der Mikrosublimation und der Mikroschmelzpunktbestimmung unter dem Mikroskop haben die mikrochemische Forschung in Chemie und Biologie wesentlich bereichert."

(Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Wien, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, 1934, Nr. 15.)

AUSBILDUNG FÜR MIKROCHEMISCHE ARBEITEN.

An nachstehenden Hochschulen besteht unter der Leitung von Professoren, Dozenten und Assistenten die Möglichkeit eines Unterrichtes, bezw. einer Information für mikrochemische Spezialgebiete.

ÖSTERREICH:

GRAZ:

Institut für anorganische und physikalische Chemie an der Technischen Hochschule (ehemals Institut Hofrat Prof. Dr. F. EMICH).
Prof. Dr. A. DADIEU *(wird später ankündigen).*

Medizinisch-chemisches Institut der Universität.
Prof. Dr. H. LIEB im Vereine mit den Assistenten Dr. A. SOLTYS, Dr. A. VERDINO und Dr. E. SCHADENDORFF: *Mikrochemisches Praktikum unter besonderer Berücksichtigung der quantitativen organischen Mikroanalyse nach Pregl, Tag und Zeit nach Vereinbarung.* (Inskription nur mit schriftlicher Zustimmung des Institutsvorstandes.) Lab.-Taxe 40 Schilling. 2—3mal jährlich.

Institut für pharmazeutische Chemie der Universität.
Prof. Dr. A. ZINKE: *Mikrochemische Kurse* (in den Osterferien und im Monat September auch *Ferialkurse).*

Institut für Biochemie und Mikrobiologie.
Prof. Dr. F. FUHRMANN *(wird später ankündigen).*
Privatdozent Dr. J. DONAU *(wird später ankündigen).*

INNSBRUCK:

Pharmakognostisches Institut der Universität.
Prof. Dr. L. KOFLER, Privatdozent Dr. R. FISCHER, Dr. A. KOFLER: *Mikroskopisch-mikrochemische Methoden.*

WIEN:

Institut für medizinische Chemie der Universität.

Privatdozent Dr. A. FRIEDRICH: *Sämtliche Methoden der quantitativen organischen Mikroanalyse.*

Pharmakognostisches Institut der Universität.

Prof. Dr. A. MAYRHOFER: *Mikrochemie der Gifte.*

Dr. L. FUCHS und Dr. O. DAFERT: *Arzneimitteluntersuchung.*

II. Chemisches Universitätsinstitut.

Privatdozent Dr. F. FEIGL: *Tüpfelanalyse.*

Institut für anorganische und chemische Technologie der Technischen Hochschule.

Privatdozent Dr. techn. Ing. M. NIESSNER: *Mikrochemische Metalluntersuchungen.*

Technologisches Institut der Hochschule für Welthandel.

Privatdozent D. E. GRÜNSTEIDL: *Mikromethodik der Warenprüfung einschließlich der Fluoreszenzanalyse und Fluoreszenzmikroskope.* Wien, XIX., Greinergasse 41, II/9.

DEUTSCHES REICH:

LEIPZIG:

Chemisches Laboratorium der Universität.

Prof. Dr. C. WEYGAND und Dr. HENNIG: *Organisch-mikrochemisches Praktikum.* Wöchentlich 4 Stunden. Nichtstudenten können gleichfalls solche Kurse mitnehmen, nach Anmeldung eventuell in einem mehrwöchigen ganztägigen Ferienpraktikum.

TSCHECHOSLOWAKEI:

BRNO (BRÜNN):

Analytisches Institut der naturwissenschaftlichen Fakultät der Masaryk-Universität.

Prof. Dr. J. V. DUBSKÝ und Privatdozent Dr. A. OKÁČ: *Vorlesungen über die Anwendung organischer Reagenzien in der Makro- und Mikro-Analyse; Tüpfelanalyse; Mikroelektro- und Mikrogas-Analyse. Einzelne Methoden der qualitativen und quantitativen anorganischen und organischen Mikroanalyse.*

PRAG:

Chemisches Laboratorium der Universität.

Privatdozent Dr. K. HELLER: *Anorganisches mikrochemisches Praktikum*

Privatdozent Dr. H. RAUDNITZ: *Organische Mikroanalyse.*

Medizinisch-chemisches Institut der Universität.

Prof. Dr. Z. STARY: *Biologische und medizinisch-chemische Mikromethoden.*

NEW YORK:

Universität New York, Washington Square College und Graduate School.

Unterricht in der organischen Mikroanalyse:

Einführung der organischen Mikroanalyse an der Universität New York, Washington Square College, New York City: September 1925.

Offizieller Pflichtgegenstand (Graduate Kurs No. 202) für Vorgeschrittene am Washington Square College und Graduate School der Universität New York, New York City: Seit September 1928.

Anzahl der Studenten: etwa 20 jedes Jahr.

Leiter des organisch-mikroskopischen Unterrichtes: Prof. Dr. J. B. NIEDERL und Assistenten.

Anorganische Mikroanalyse (Undergraduate): Offizieller Kurs Nr. 44 am Washington Square College der New York University. Eine Vorlesungsstunde und 5 Stunden Laboratoriumsübungen pro Woche durch ein Semester. Teilnehmerzahl durchschnittlich 30 Studenten. Unter der Leitung von Assistant Prof. Dr. A. A. BENEDETTI-PICHLER und Assistenten.

Sommerkurs für organische und anorganische Mikroanalyse. Die Kurse finden unter der Leitung der Professoren Dr. J. B. NIEDERL und Dr. A. A. BENEDETTI-PICHLER unter Assistenz von Dr. H. ALBER statt.

Polytechnic Institute von Brooklyn (N. Y.).

Chemische Mikroskopie. Eine Vorlesungsstunde und 2 Stunden Laboratoriumsübungen pro Woche durch 2 Semester hindurch. Unter der Leitung von Prof. Dr. W. F. WHITMORE und Assistenten.

Sofern analoge Unterrichtmöglichkeit an anderen Orten besteht, ist der Verlag nach diesbezüglicher Verständigung gern bereit, Ankündigungen an gleicher Stelle bekanntzugeben.

EMIL HAIM & CO., WIEN UND LEIPZIG

QUALITATIVE CHEMISCHE ANALYSE NACH DEM SCHWEFELNATRIUMGANG.

Unter Mitarbeit von
Hofrat Dr. techn. h. c. et phil. **Georg Vortmann** †
bearbeitet und herausgegeben von
Prof. Ing. **Robert Lieber.** VIII und 184 Seiten Oktav. 1933.

RM 7.50, S 12.75
In Leinen gebunden RM 9.–, S 15.30

Das vorliegende Buch bringt den Schwefelnatriumgang, der heute außer an der Technischen Hochschule in Wien auch an andern Instituten und Schulen sowie in der Praxis eingeführt ist, in ganz neuer Durcharbeitung und enthält alle Teile, die als theoretisches Rüstzeug zur Analyse notwendig sind. Besonderen Wert erhält das Buch durch die Anleitungen, wie Fehler zu vermeiden, bzw. gemachte Fehler zu entdecken sind. Reichliche Literaturangaben bieten die Möglichkeit zur Vertiefung in fallweise besonders interessierende Fragen.

PRAKTIKUM DER ORGANISCHEN UND PHYSIOLOGISCHEN CHEMIE FÜR MEDIZINER. VON DR. ERWIN SCHADENDORFF.

Assistenten am Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.
IV und 111 Seiten Kleinoktav. 1933.

RM 3.– S 5.–

Aus dem Bedürfnis nach einem Buch, das der Einteilung und dem Stoff des Chemieunterrichtes für Mediziner an den Hochschulen Österreichs und der Nachfolgestaaten entspricht, entstanden, soll dieses Praktikum als Grundlage für die organisch- und physiologisch-chemischen Übungen dienen, zugleich die Vorgänge beim Experimentieren erklären und auf die Zusammenhänge in der organischen Chemie und besonders in der Biochemie hinweisen.